

SÉRIE A, N° 1.151

N° d'ordre :

2.011

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

THÉOPHILE CAHN

PRÉPARATEUR AU LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG
DOCTEUR EN MÉDECINE

1^{re} THÈSE. — Recherches de physiologie générale sur les variations des équilibres des constituants cellulaires au cours du développement embryonnaire et du jeûne. Constitution et évolution de la molécule des protides.

2^{me} THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le

1928 devant la Commission d'examen

MM. L. LAPICQUE, *Président*

L. BERTRAND }
P. PORTIER } *Examineurs*

PARIS

LIBRAIRIE OCTAVE DOIN

GASTON DOIN & C^{ie}, ÉDITEURS

8, PLACE DE L'ODÉON, 8

1928

SÉRIE A, N° 1.151
N° d'ordre :
2.011

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

THÉOPHILE CAHN

PRÉPARATEUR AU LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG
DOCTEUR EN MÉDECINE

1^{re} THÈSE. — Recherches de physiologie générale sur les variations des équilibres des constituants cellulaires au cours du développement embryonnaire et du jeûne. Constitution et évolution de la molécule des protides.

2^{me} THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le

1928 devant la Commission d'examen

MM. L. LAPICQUE, *Président*

L. BERTRAND }
P. PORTIER } *Examineurs*

PARIS

LIBRAIRIE OCTAVE DOIN

GASTON DOIN & C^{ie}, ÉDITEURS

8, PLACE DE L'ODÉON, 8

1928

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.

Doyens honoraires P. APPELL, M. MOLLIARD.

Professeurs honoraires
 P. PUISEUX.
 V. BOUSSINESQ.
 A. JOANNIS.
 H. LE CHATELIER.
 H. LEBESGUE.
 A. FERNBACH.
 A. LEDUC.

Professeurs
 Émile PICARD Analyse supérieure et algèbre supérieure.
 G. KENIGS Mécanique physique et expérimentale.
 E. COURSAT Calcul différentiel et calcul intégral.
 P. JANET Électrotechnique générale.
 F. WALLERANT Minéralogie.
 H. ANDOYER Astronomie.
 P. PAINLEVÉ Mécanique analytique et mécanique céleste.
 Gabriel BERTRAND Chimie biologique.
 M^{me} P. CURIE Physique générale et radioactivité.
 M. CAULLERY Zoologie (Evolution des êtres organisés).
 G. URBAIN Chimie minérale.
 Émile BOREL Calcul des probabilités et physique mathématique.
 L. MARCHIS Aviation.
 Jean PERRIN Chimie physique.
 Rémy PERRIER Zoologie (Enseignement P. C. N.).
 H. ABRAHAM Physique.
 M. MOLLIARD Physiologie végétale.
 E. CARTAN Géométrie supérieure.
 L. LAPICQUE Physiologie générale.
 E. VESSIOT Théorie des fonctions et théorie des transformats.
 A. COTTON Physique générale.
 J. DRACH Application de l'analyse à la géométrie.
 Charles FABRY Physique.
 Charles PÉREZ Zoologie.
 Léon BERTRAND Géologie structurale et géologie appliquée.
 R. LESPIEAU Théories chimiques.
 E. RABAUD Biologie expérimentale.
 P. PORTIER Physiologie comparée.
 É. BLAISE Chimie organique.
 P.-A. DANGEARD Botanique.
 P. MONTEL Mécanique rationnelle.
 P. WINTREBERT Anatomie et histologie comparées.
 O. DUBOSQ Biologie maritime.
 G. JULIA Mathématiques générales.
 A. JOB Chimie générale.
 A. MAILHE Étude des combustibles.
 L. LUTAUD Géographie physique et géologie dynamique.
 Eugène BLOCH Physique théorique et physique céleste.
 Henri VILLAT Mécanique des fluides et applications.
 CH. JACOB Géologie.
 P. PASCAL Chimie appliquée.

E. HÉROUARD Zoologie.
 E. PÉCHARD Chimie (Enseign^t P. C. N.).
 V. AUGER Chimie analytique.
 M. GUICHARD Chimie minérale.
 A. GUILLET Physique.
 C. MAUGUIN Minéralogie.
 L. BLARINGHEM Botanique.
 A. MICHEL-LÉVY Pétrographie.
 A. DEREIMS Géologie.
 R. DONGIER Physique du globe.
 A. DENJOY Calcul différentiel et intégral.
 H. BÉNARD Physique (P. C. N.).

E. DARMOIS Physique.
 G. BRUHAT Physique.
 H. MOUTON Chimie physique.
 L. JOLEAU Paléontologie.
 M. JAVILLIER Chimie biologique.
 A. DUFOUR Physique (P. C. N.).
 F. PICARD Zoologie (Evolution des êtres organisés).
 ROBERT-LÉVY Zoologie.
 L. DUNOYER Optique appliquée.
 A. GUILLIERMOND Botanique (P. C. N.).
 A. DEBIERNE Radioactivité.

Secrétaire Daniel TOMBECK.



A MON MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR GEORGES SCHAEFFER

*en témoignage de ma profonde affection
et de ma reconnaissance.*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

PRÉFACE

Notre premier contact avec la physiologie a été le cours professé en 1919-20 à la Faculté de Médecine par MM. les professeurs MAYER et SCHAEFFER. C'est à leur enseignement si vivant et si suggestif que nous devons de nous être orienté vers les sciences biologiques. Nous leur en exprimons aujourd'hui notre gratitude.

Ce travail représente une partie des recherches que nous avons poursuivies depuis 1920 à l'Institut de Physiologie de la Faculté de Médecine de Strasbourg.

Qu'il soit pour notre maître le professeur G. SCHAEFFER un faible témoignage de notre reconnaissance. Il nous a inspiré ces recherches et n'a cessé durant les années passées dans son Institut de nous faire profiter de son expérience, nous guidant avec une inaltérable et toujours clairvoyante bienveillance. Ce n'est pas en ces quelques lignes que nous pourrions dire tout ce que nous savons lui devoir.

Nous remercions bien amicalement M^{lle} LE BRETON, chef des travaux de l'Institut, pour l'aide cordiale qu'elle nous a toujours accordée aux cours des années passées à l'Institut ; nos conversations amicales sur les sujets qui m'intéressaient m'ont souvent été précieuses.

Ce travail paraît ailleurs en collaboration avec M. BONOT, ingénieur E. P. C., avec qui nous avons travaillé quotidiennement depuis trois ans. Nous garderons toujours le meilleur souvenir de cette agréable collaboration.

Notre ami le docteur C. KAYSER nous a prêté maintes fois

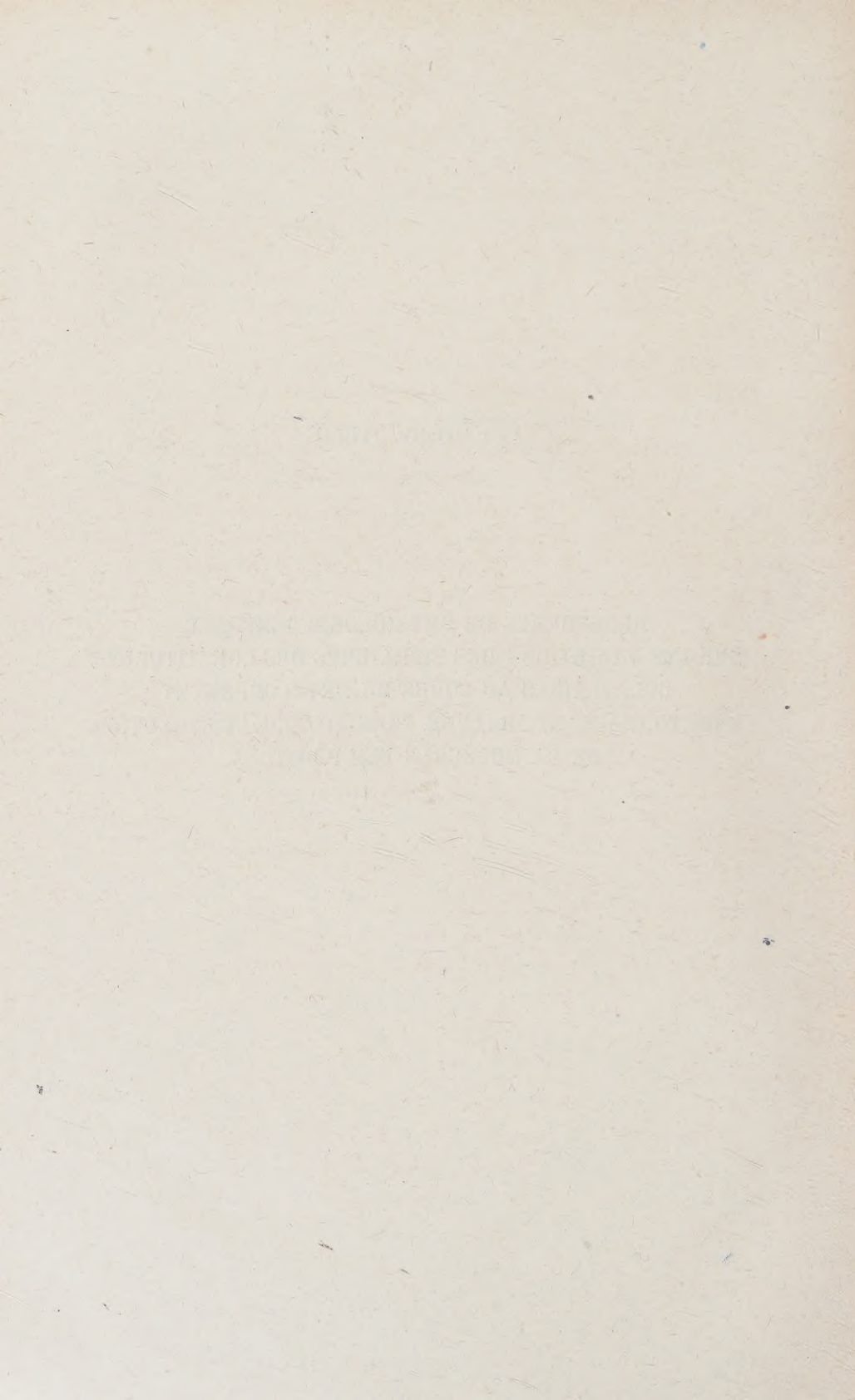
son concours. Qu'il trouve ici l'expression de notre amitié cordiale; elle nous fut d'un grand secours pendant ces années de travail passées dans le même laboratoire.

MM. les professeurs GIGNOUX, de LAPPARENT, TERROINE et VLES, voudront bien trouver ici l'expression de notre respectueuse reconnaissance pour l'enseignement qu'ils nous ont donné à la Faculté des Sciences de Strasbourg.

M. le professeur LAPICQUE — dont nous avons eu l'occasion de fréquenter le laboratoire pendant de trop courtes journées en 1925, a bien voulu accepter la présidence de notre thèse. Nous lui en gardons une respectueuse gratitude, ainsi qu'à MM. les professeurs L. BERTRAND et P. PORTIER, qui ont bien voulu faire également partie de notre jury.

PREMIÈRE THÈSE

RECHERCHES DE PHYSIOLOGIE GÉNÉRALE
SUR LES VARIATIONS DES ÉQUILIBRES DES CONSTITUANTS
CELLULAIRES AU COURS DU DÉVELOPPEMENT
EMBRYONNAIRE ET DU JEUNE. CONSTITUTION ET ÉVOLUTION
DE LA MOLÉCULE DES PROTIDES



INTRODUCTION

Quand on étudie la constitution des cellules vivantes, non en chimiste, mais en physiologiste, quand on cherche à déterminer des « constantes cellulaires » au sens de MAYER et SCHAEFFER ⁽¹⁾, on fait une étude aussi bien dynamique que statique de la matière vivante.

Il est aujourd'hui admis par tous les biologistes qu'à la fixité de forme des cellules vivantes est liée leur fixité de composition : c'est là le point de vue statique. Du point de vue dynamique, la mise en évidence dans le protoplasme de constituants permanents qui ne peuvent varier que dans des limites étroites traduit l'existence de régimes d'équilibre dans lesquels sont engagés ces constituants ; l'équilibre protoplasmique total est fait de ces équilibres partiels.

Examinons maintenant l'étendue des variations de concentration que peuvent subir les constituants engagés dans tel ou tel équilibre partiel au cours des divers états physiologiques ; on s'aperçoit qu'elle est plus ou moins grande. On peut alors faire l'hypothèse suivante : vis-à-vis de l'équilibre protoplasmique général, les équilibres partiels se présentent avec *des degrés de liberté* plus ou moins grands ; une cellule peut contenir par exemple beaucoup ou peu de glycogène ou de graisse suivant ses conditions de travail ou de nutrition. Ces deux constituants sont donc engagés dans des équilibres,

(1) Les numéros suivant les noms d'auteurs se rapportent à l'indice bibliographique qui se trouve à la fin de ce travail.

dont les déplacements sont possibles dans une large mesure, compatible avec un fonctionnement cellulaire normal. Il en va tout autrement pour d'autres composés qui, même dans les états physiologiques les plus différents, ne varient que d'un faible pourcentage. Nous admettons que ces derniers constituants sont engagés dans des équilibres qui ne sauraient se déplacer, et dont le régime doit rester fixe dans la cellule *par le fait même qu'elle vit* ; leur fixité doit être à la fois la condition et l'expression de son fonctionnement. Le déplacement de ces équilibres marquerait la dégénérescence ou la mort.

Ces deux types d'équilibres dont nous supposons l'existence ne sauraient être mis en évidence chez l'animal normal adulte où les divers mécanismes régulateurs jouent au maximum, où les variations d'activité physiologique sont restreintes en dehors du travail musculaire intense. Pour vérifier notre hypothèse, nous devons recourir à l'étude d'autres états physiologiques de l'être vivant.

Comme nous l'avons déjà fait en nous adressant à la dégénérescence musculaire par inactivité fonctionnelle, comme nous le faisons aujourd'hui en abordant l'étude du développement embryonnaire et du jeûne, il faut faire porter l'investigation sur des cellules dont la différenciation n'est pas encore accomplie, ou qui se différencient par suite de processus pathologiques si l'on veut approfondir le problème posé. Dans de tels types cellulaires, on n'aura pas d'échanges de matière correspondant au travail spécifique inhérent à toute spécialisation, et venant se surajouter aux mutations d'énergie qui conditionnent l'existence même de la cellule en tant qu'unité élémentaire de matière vivante, si ces deux types d'échanges sont distincts.

C'est ainsi qu'on peut exprimer, croyons-nous, en le schématisant, le problème que nous nous posons.

En l'étudiant, nous nous sommes aperçus qu'il touchait par de nombreux points à d'autres questions de physiologie générale qui lui sont connexes.

L'étude des constituants azotés des tissus révèle qu'il en est de deux sortes ; les uns sont engagés dans la molécule des protides et n'existent qu'à l'état colloïdal (albumines

des tissus) ; les autres appartiennent au contraire aux composés dits *extractifs* et sont en solution vraie. Dans ces extractifs figurent des amino-acides libres provenant de la résorption du contenu intestinal et qui sont fixés électivement sur certains tissus (muscles, foie) par un mécanisme encore obscur. Qu'un équilibre existe entre ces amino-acides libres ou à l'état de peptides (carnosine) et ceux qui sont engagés dans la molécule des protides, nul n'en doute ; mais nous ignorons tout de cet équilibre et nous ne pouvons affirmer que la totalité des noyaux protidiques constituant des albumines des tissus y soient engagés. Les problèmes étudiés par nous posent donc la question du mode exact d'intervention des protides dans le métabolisme, du mode d'attaque ou de reconstruction de leur molécule au cours des processus d'anabolisme ou de catabolisme. A cette étude est intimement lié, nous le montrerons, le problème de la signification du terme et du contenu de la notion de « protides de réserve » ; cette notion est justiciable d'une étude directe qui doit en régler la valeur, et cette étude, les physiologistes l'ont rarement tentée.

En recueillant les données numériques nécessaires à l'étude des variations des équilibres cellulaires au cours du développement embryonnaire, nous devons être inévitablement conduits à rechercher quel rôle jouent les constituants de l'œuf étudiés par nous dans l'énergétique du développement. Nous n'y avons pas manqué ; comme on le verra, la comparaison des phénomènes qui se passent simultanément dans l'embryon et dans le reste de l'œuf nous a conduits à d'intéressantes constatations qui peuvent éclairer l'énergétique du développement.

RECHERCHES SUR LA PHYSIOLOGIE GÉNÉRALE DU DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE

Dans la première partie de ce travail, nous exposerons les recherches que nous avons effectuées sur la physiologie du développement embryonnaire. Il comporte trois chapitres : le premier est consacré à l'étude de l'évolution d'un certain nombre de constituants de la matière vivante : lipides, protides durant l'ontogenèse ; le second est consacré à l'étude des modifications de composition que subit le contenu de l'œuf, à l'exception de l'embryon durant l'incubation ; quant à la troisième partie, s'étayant sur les données numériques fournies par les deux premières, elle nous permettra de discuter en détail la valeur des conceptions actuellement admises sur la nature des sources de potentiel chimique qui sont utilisées pour le développement du jeune organisme. Les conclusions générales à tirer de cet ensemble de recherches sont réservées ; nous ne les donnerons que simultanément avec les données rassemblées au cours de nos études sur le jeûne, ce qui nous permettra une discussion générale des problèmes qui nous préoccupent actuellement.

PREMIÈRE PARTIE

Variations qualitatives et quantitatives des constituants de l'embryon de Poule au cours du développement

L'œuf de Poule est un objet d'étude classique pour le physiologiste. Dans cette espèce, on peut rassembler rapidement des matériaux très homogènes, et le travail se trouve facilité par la rapidité de différenciation morphologique et chimique de l'embryon.

La biochimie du développement de cet organisme n'a été abordée que tout récemment avec des méthodes précises, et notamment depuis les travaux de FRIDERICIA, LE BRETON et SCHAEFFER, NEEDHAM, FISKE et BOYDEN, etc. Nous ne donnerons pas la bibliographie complète des recherches antérieures aux publications de ces auteurs puisqu'on la trouve dans les mises au point récentes de FAURÉ-FRÉMIET (24) et de NEEDHAM (62). Parmi les mémoires parus depuis ces importants travaux d'ensemble nous ne citerons même que ceux où les constituants protoplasmiques spécialement étudiés par nous sont pris en considération.

ÉVOLUTION DES LIPIDES.

A notre connaissance il n'existe pas de travaux où l'évolution des lipides de l'embryon de poulet ait été étudiée d'une façon systématique pendant tout le développement. En général, au lieu de considérer l'embryon sans ses membranes, comme nous l'avons fait, les auteurs se sont attachés à suivre les phénomènes qui se passaient dans *l'œuf total*,

afin de saisir les mutations ou les synthèses réalisées dans ce milieu fermé. C'est un aspect de la question que nous aurons, nous aussi, à envisager.

Toutes nos expériences ont été faites sur des œufs de la race Leghorn blanche, couvés au laboratoire à l'incubateur électrique et dans des conditions de température et d'humidité soigneusement contrôlées. Pour un stade donné, on a toujours utilisé un nombre d'embryons suffisant pour que les moyennes aient une véritable valeur : les chiffres qui ont servi à les établir sont d'ailleurs, comme on peut s'en assurer, très homogènes. Les œufs sont ouverts avec les précautions d'usage au moment du dosage, les embryons, les membranes, et tout le reste de l'œuf sont recueillis séparément et quantitativement. Les résultats de toutes ces analyses seront publiés ultérieurement.

Les embryons sont placés dans un vase taré et bouché pour éviter la perte d'eau par évaporation, puis pesés, aussitôt, à 0 mgr. 5 près. On les couvre d'un excès d'alcool à 96° (quatre ou cinq fois leur volume) et on les broie rapidement avec des ciseaux courbes afin d'arrêter toute action des ferments. Au bout de trois heures, on filtre dans une cartouche d'extraction de DURIEUX, et on extrait huit heures par l'alcool à 95° bouillant, dans un appareil de Kumagawa. On évapore au bain-marie, dans le vide, les alcools de précipitation et d'extraction réunis, on sèche par quelques adjonctions d'alcool absolu qu'on évapore dans le vide ; on reprend par la benzine pure (séchée sur le sodium), à l'ébullition. L'extrait benzénique centrifugé est transvasé quantitativement dans une fiole jaugée de dimensions appropriées. On prend des parties aliquotes pour exécuter les dosages suivants :

- 1° Graisses totales (par pesée) ;
- 2° Phospholipides (par le phosphore) ;
- 3° Cholestérine totale (par la digitonine) ;
- 4° Acides gras totaux (par pesée après saponification).

1° *Graisses totales.* — On évapore à sec, dans le vide, une partie aliquote de l'extrait benzénique, dans un petit ballon à fond plat. Ce ballon est ensuite posé sur une platine chauff-

fante réglée à 60° et placée sous une cloche à vide qu'on évacue à l'aide d'une pompe rotative à huile (vide de 1 à 2 mm. de Hg). Le séchage dure six à huit heures.

2° *Phosphore des phospholipides.* — Une partie aliquote de l'extrait benzénique est évaporée à sec dans un matras à Kjeldahl ; on minéralise par voie humide et on dose d'après la méthode de NEUMANN-GRÉGERSEN (LEMELAND, 41 bis).

3° *Cholestérine.* — La cholestérine est dosée dans l'insaponifiable total obtenu par saponification d'une prise de l'extrait benzénique ; on utilise la technique de LEMELAND pour faire cette séparation. Le dosage est fait par la digitonine, en suivant, lorsqu'il s'agit de petites quantités, les indications de SPACH et GIRARDIN (79 bis).

4° *Acides gras totaux.* — Les acides gras totaux, séparés de l'insaponifiable total selon LEMELAND, sont dosés par pesée.

Utilisation des résultats numériques : calculs.

Connaissant le phosphore des phosphatides, on peut calculer ces derniers de façon à les exprimer en lécithine distéarique (phosphore lipidique, exprimé en P, multiplié par le facteur 25,1). On obtient facilement les acides gras qui correspondent à cette lécithine, en multipliant le chiffre de phosphore par 17,35 ⁽¹⁾.

En soustrayant des acides gras totaux le poids des acides gras provenant de la lécithine, on obtient les acides gras des graisses, plus ceux des éthers de la cholestérine. Ces derniers sont faciles à déterminer si on connaît le rapport de la cholestérine libre à la cholestérine combinée.

Si on connaît : le phosphore lipidique total, l'insaponifiable total, les acides gras totaux, qui correspondent à un certain poids d'extrait benzénique, si on admet que tous les acides gras ne provenant pas des phospholipides sont à l'état de triglycérides, supposition que nous démontrerons

(1) On fait une très petite erreur en prenant 274 comme poids moyen des acides gras constituants de la molécule de lécithine. Les acides gras non saturés du type acide linoléique, etc., ne se rencontrent guère que dans la lécithine du foie des animaux adultes (LEVENE).

très proche de la réalité, on peut faire des calculs qui donnent eux-mêmes confirmation des hypothèses faites.

Exemple :

Soit une prise d'extrait benzénique pesant.. 2 gr. 455
 Elle donne un poids d'acides gras égal à.... 1 gr. 700
 Et un poids de phosphore lipidique égal à
 20,4 mg. qui, transformé en lécithine,
 donne $20,4 \times 25,1$ = 0 gr. 518

Les acides gras de la lécithine sont alors :

($20,4 \times 17,65$)..... = 0 gr. 364
 Insaponifiable total..... = 0 gr. 350
 Les acides gras des graisses, de la cholestérine, et les acides gras libres sont
 alors de : $1,700 - 0,364$ = 1 gr. 336

On a donc :

	Répartition	Prise d'extrait benzénique
Acide gras des <i>glycérides</i> , des éthers de la cholestérine.....	1 gr. 336	2 gr. 455
Lécithine (par le phosphore).....	0 gr. 518	
Insaponifiable total.....	0 gr. 350	
Poids de la glycérine — poids de l'eau si on admet que tous les acides gras viennent des glycérides.....	0 gr. 062	
TOTAUX.....	<u>2 gr. 266</u>	<u>2 gr. 455</u>

De nombreux calculs de ce genre nous ont toujours donné une approximation du même ordre de ce procédé d'évaluation.

Nos dosages ont toujours été faits en double et n'ont été utilisés que lorsqu'ils ne différaient pas entre eux de plus de 2 p. 100. Lorsque les concordances étaient moins bonnes, on faisait de nouvelles déterminations.

Pour des raisons déjà exposées ailleurs (Th. CAHN) (19), nous avons toujours déterminé la teneur en eau de nos embryons *par différence entre le poids frais de la prise et le poids sec obtenu*, en faisant la somme des chiffres suivants :

Poids de l'extrait benzénique desséché.
 Poids de l'extrait alcoolique insoluble dans la benzine sèche. *
 Poids de la matière extraite par l'alcool, séchée à 105°.

Cette détermination indirecte de la teneur en eau, comme l'ont montré nos expériences de contrôle, est extrêmement précise; elle est plus exacte que la détermination directe de l'humidité faite sur quelques embryons pris comme témoins.

Résultats obtenus dans l'étude des lipides.

I. — **Phosphatides.** — Nous n'avons pas trouvé de données nombreuses sur l'évolution des phosphatides au cours du développement embryonnaire du Poulet. MAXWELL, CARPIAUX, puis PLIMMER et SCOTT (70), ces derniers auteurs, par une technique rigoureuse, ont déterminé les variations réciproques des différentes formes de phosphore à l'intérieur du phosphore total. PLIMMER et SCOTT ont montré qu'au cours du développement, l'acide glycérophosphorique était décomposé et donnait naissance à des phosphates inorganiques, mais n'entraînait point en combinaison avec la molécule des protides pour donner des phosphoprotéines.

L'ensemble de nos résultats numériques personnels se trouve rassemblé dans le tableau I.

On voit que la quantité de phosphore lipidique, évaluée sur les embryons *sans membranes*, va croissant continuellement comme croît le poids total lui-même au cours du développement. (V. la courbe n° 1.) La signification de cette courbe est cependant beaucoup plus précise que celle de la courbe d'augmentation du poids sec, puisqu'il s'agit ici de la détermination d'un type unique de substances, les phosphatides (¹).

Par rapport à 100 grammes de tissu frais, on constate une augmentation régulière de la teneur en phosphatides du sixième jour au quinzième jour, puis le pourcentage ne varie ensuite que très peu jusqu'à l'éclosion. Une interprétation simple de ces constatations n'est pas facile à donner, mais ce ne sont certainement pas les variations de la richesse en eau des tissus qui les déterminent, puisque l'augmentation du poids

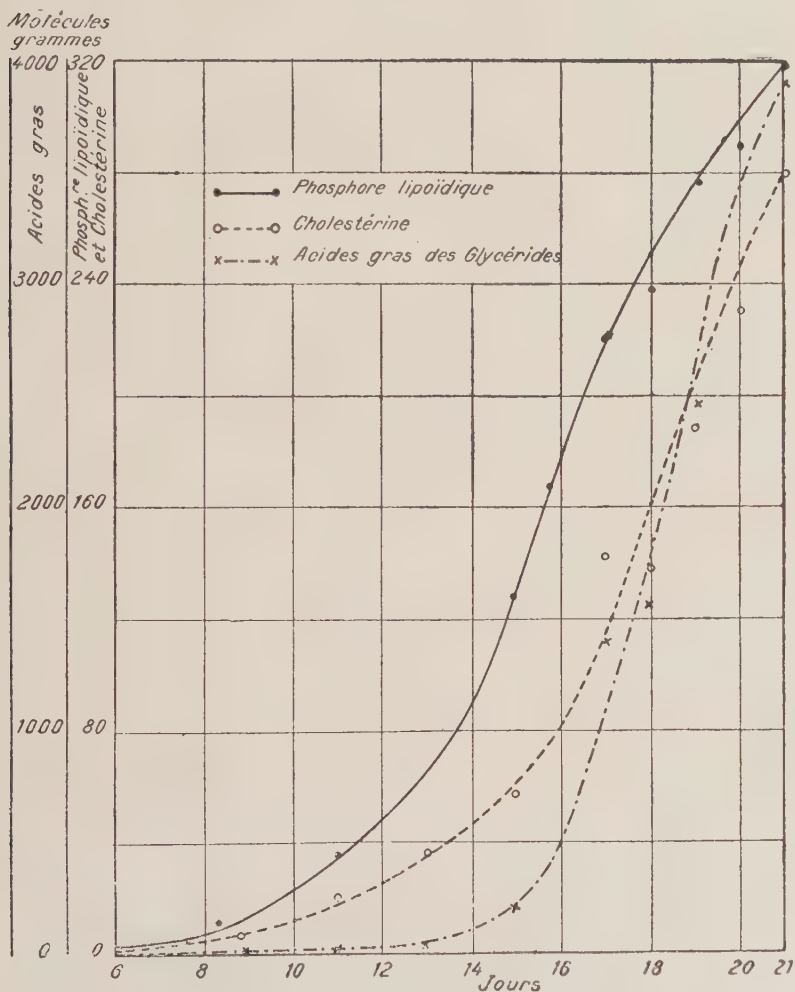
(¹) Dans l'embryon il y a très peu de substances phosphorées solubles dans la benzine anhydre, en dehors des phosphatides.

TABLEAU I
Évolution du phosphore lipidique dans l'embryon au cours du développement.

Nombre d'œufs analysés	Age en jours	Pour 100 grammes				Par embryon			Phosph. lip. 31	Accrois- sement jour.	Acr. journ. par unité de subst.	Eau 400 gr. frais mgr.
		frais gr.	secs gr.	secs et dégradés gr.	eau gr.	trouvé mgr.	d'après la courbe mgr.					
248	6	0,026	0,480	0,752	0,027	0,07			2,26	0,08	11,4	94,7
	7								4,75	0,10	67	
45	8		0,540	0,862		0,40			8,00			
83	8,8	0,034	0,540	0,858	0,035	0,40						
	9									0,15	50	94,0
	10								12,90	0,30	75	
32	11	0,039	0,560	0,907	0,042	1,03			22,60	0,37	53	93,0
10	11		0,520	0,793		1,27						
10	11			0,740		1,16	1,10		34,50	0,38	36	
	12									0,55	38	
25	13	0,040	0,480	0,730	0,044	2,00			46,80	0,75	37,5	91,6
	14								64,50	1,25	45,5	89,0
7	15	0,048	0,448	0,639	0,054	3,95			87,80	1,55	38,8	
7	15	0,044	0,353	0,508	0,050	4,10			129,00			
2	15,7		0,287	0,383		5,17				1,25		
2	15,7		0,251	0,354		5,15						
	16											
6	17	0,041		0,344	0,049	6,70	5,55		177,00	1,25	22,6	83,0
3	17		0,207	0,293		6,90	6,80		219,00	0,95	14,0	
7	18	0,038	0,219	0,309	0,046	7,35			251			
4	19	0,039	0,218	0,342	0,048	8,60			276	0,85	11	82,8
2	20		0,180	0,276		9			301	0,72	8,40	82,0
2	21		0,180	0,273		7,35				0,51	5,47	
4	21	0,038	0,193	0,314	0,048	11,1			315			81
3	21,25	0,048	0,228	0,345	0,061	14,7	9,85		475			79
1	Poussin de 2 jours,	0,066		0,403	0,085	20,4						76,9

(¹) Les poussins sont sortis de l'œuf depuis trois à quatre heures.

sec de 100 grammes frais d'embryon continue encore après le quinzième jour, et régulièrement jusqu'à l'éclosion. La teneur en phosphatides rapportée à 100 grammes d'eau des tissus

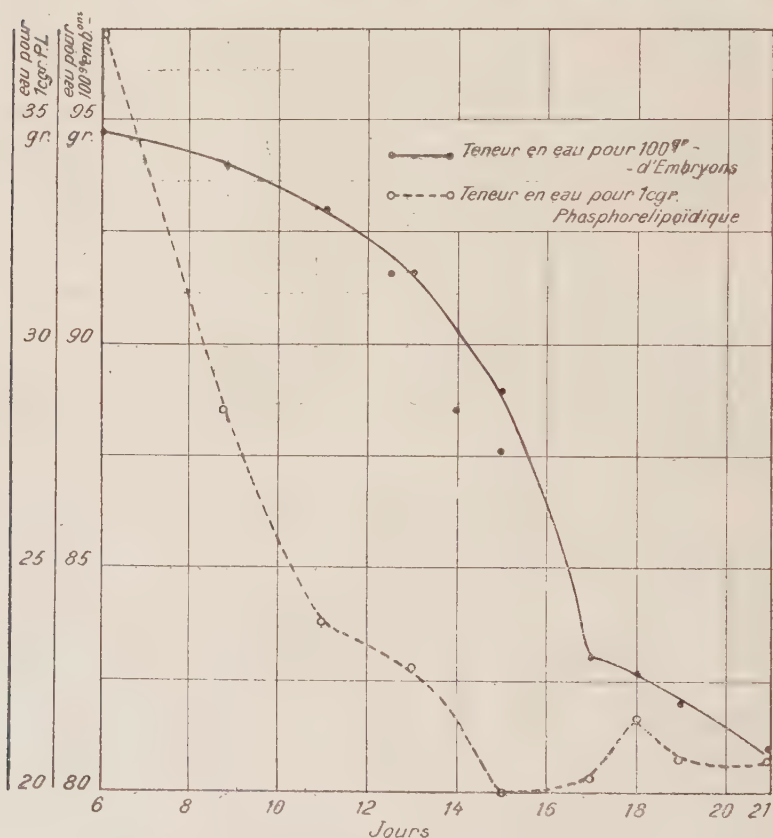


Courbe n° 1. — Évolution des différents composés lipidiques.

varie d'ailleurs dans le même sens, en fonction du temps. Une relation directe entre l'hydratation des tissus et leur teneur en phosphatides paraît donc difficile à admettre jusqu'au quinzième jour. A partir de cette date on constate une

constance approximative de la teneur en phosphatides pour 100 grammes d'eau, bien que la teneur en eau de 100 grammes frais continue à diminuer.

Nous donnons dans la courbe n° 2 les variations de la teneur en eau de 100 grammes frais pendant l'incubation ; cette diminution progressive est connue depuis longtemps.

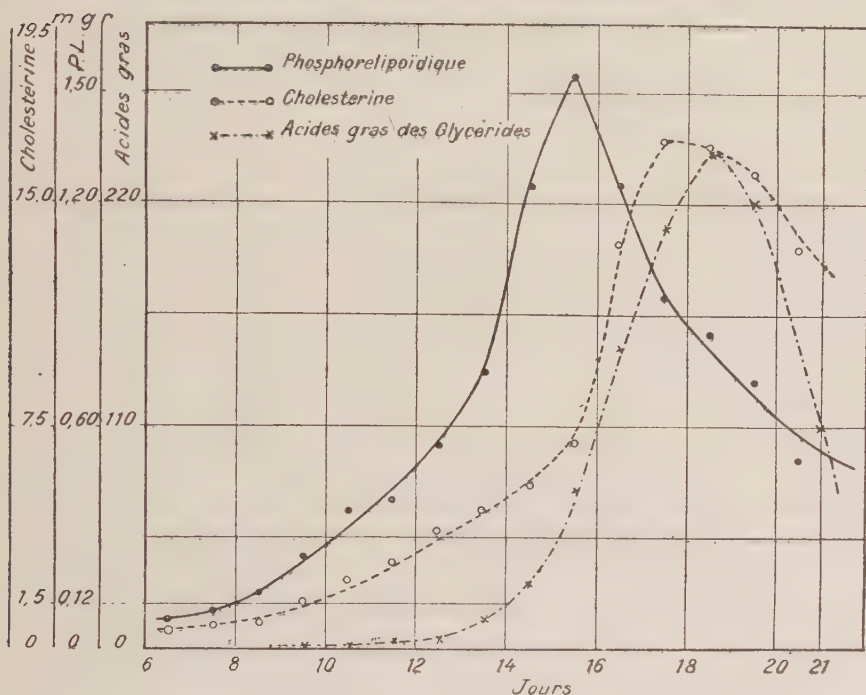


Courbe n° 2. — Variation de la teneur en eau de l'embryon et variation de l'eau par rapport au phosphore lipidique.

POUR RUBNER et THOMAS, la forme sous laquelle l'eau serait retenue dans les tissus varierait. Notre courbe montre que la diminution de l'hydratation est très irrégulière : très faible entre le sixième et le onzième jour, elle devient très forte à partir de cette date jusqu'au dix-septième jour, puis l'allure

change complètement, la diminution devenant très petite jusqu'à l'éclosion.

Nous donnons dans la même courbe (n° 2) les variations de l'inverse de la teneur en phosphore lipodique, rapportée à 100 grammes d'eau des tissus ; elles ne suivent pas celles de l'eau, mais à partir du quinzième jour la teneur des tissus en phosphatides devient approximativement constante, pour



Courbe n° 3. — Accroissements journaliers des différents composés lipidiques.

100 grammes d'eau comme pour 100 grammes de tissus frais.

Peut-on rapprocher ces faits des données morphologiques ? L'embryon de Poule possède dans une première période un mésonephros seul capable d'excrétion : le mésonephros se forme à partir du deuxième ou troisième jour, et il est complètement formé au plus tard au huitième jour. FRIDERICIA (27) a observé macroscopiquement l'évolution du mésonephros : il est très irrigué à partir du huitième jour ; il atteint son développement maximal au seizième jour ; à partir de cette

date il s'atrophie. FRIDERICIA a noté que l'atrophie s'accompagnait d'une forte diminution d'excrétion de l'acide urique. C'est encore à cette date qu'on constate une variation brusque dans l'hydratation des tissus et l'accélération de cette perte d'eau commence de même au moment où le mésonephros entre en fonction. Les reins définitifs commencent à se former le quatrième jour (DUVAL), mais le moment où commence leur activité sécrétoire est inconnu.

La courbe n° 3 donne les accroissements journaliers des lipides au cours du développement. Le maximum est réalisé pour les phosphatides entre le quinzième et le seizième jour. A partir de cette date, la formation des phosphates inorganiques signalée par PLIMMER et SCOTT se fait rapidement aux dépens des *phospholipides* de l'œuf. Les variations de l'accroissement journalier des lipides donnent ici des courbes en cloches, qu'on obtient *pour tous les constituants de l'embryon* dès qu'ils augmentent en fonction du temps suivant une forme d'accroissement qui n'est pas infinie (courbe en S) : pour le poids brut, le poids sec, ou les constituants considérés isolément.

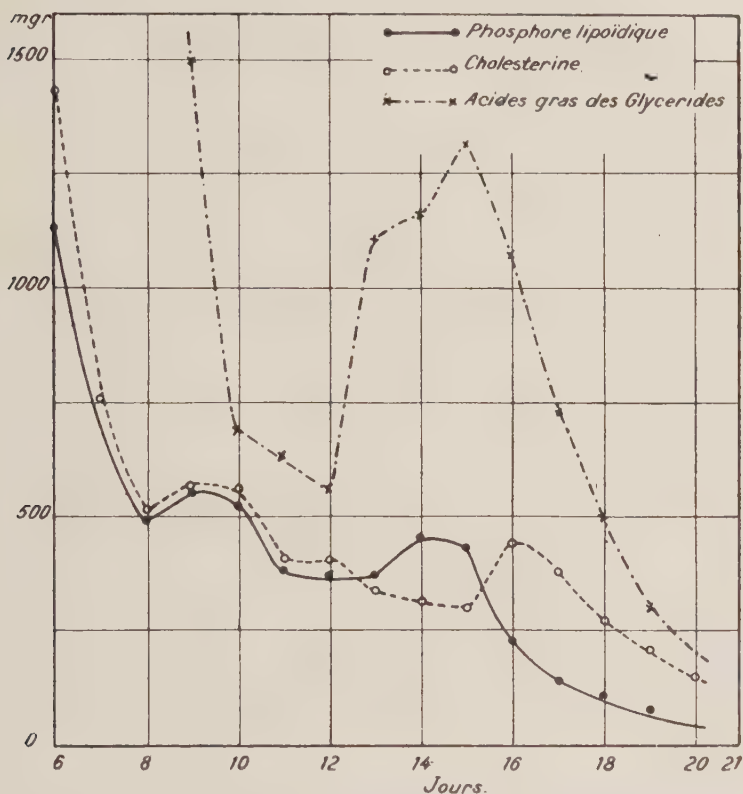
La figure 4 réunit les courbes de vitesse d'accroissement journalier (dérivées logarithmiques) pour les divers constituants dosés. Après une chute importante qui se place du sixième au huitième jour, on voit deux accidents qui se placent respectivement entre les jours 8-10 et 14-16 pour le *phosphore lipidique*. Nous ne possédons pas assez de données anatomiques pour pouvoir relier ces phénomènes à des différenciations structurales. Les variations de vitesse de formation que la courbe nous révèle sont complexes, et ne sauraient être interprétées d'une façon simple.

Nous avons cherché à établir la formule de la courbe logarithmique des variations de la teneur en phosphatides par embryon. En portant les logarithmes de ces teneurs en fonction du logarithme du temps, on obtient deux droites qui se coupent au dix-septième jour, et dont la formule générale est :

$$a \log t - b$$

a et b étant des constantes, et t le temps en jours. La cons-

tante a est pour la première droite, jusqu'au dix-septième jour, de 4,5 ; elle est de 1,67 pour la deuxième droite. Cette formule est la même aux constantes près, que celle donnée par MURRAY pour les *poids frais et secs* et que nous avons nous aussi obtenue pour les mêmes constituants ⁽¹⁾.



Courbe n° 4. — Accroissement par unité de masse des différents composés lipidiques.

Les deux derniers chiffres du tableau n° 1 se rapportent à des poussins déjà éclos depuis des temps différents ; leur teneur en phosphatides est très augmentée, phénomène contemporain de l'intense résorption de jaune qui suit la

⁽¹⁾ La cholestérine donne une droite pour laquelle on a : $a = 4,4$.

TABEAU II
Evolution de la cholestérine dans l'embryon au cours du développement.

Age en jours	Pour 100 grammes				Par embryon		Cholestérine — 386,0	Accroisse- ment journalier mgr.	Vitesse d'accr. journalier %	Phosp.lip. cholest.
	frais gr.	secs gr.	secs et degr. gr.	eau gr.	trouvé mgr.	d'après courbe mgr.				
6	0,152	2,820	4,420	0,160	0,43	0,430	1,11	0,620	144	2,04
7						1,050	2,72	0,800	76	1,75
8	0,222	3,570	5,680	0,236	2,60	1,850	4,80	0,930	50,2	1,67
9						2,780	7,20	1,550	55,8	1,70
10	0,280	4,050	6,550	0,300	7,5	4,33	11,2	2,430	56,0	2,02
11		4,520	7,520							
12					8,2	6,79	17,6	2,860	42,0	1,96
13	0,300	3,560	5,500	0,330	14,0	9,65	24,8	3,950	41,0	1,89
14						13,60	35,2	4,650	34,2	1,83
15	0,240	2,260	3,200	0,270	19,8	18,25	47,2	5,550	31,4	1,88
16	0,262	2,120	3,060	0,298	24,6	23,80	61,6	7,050	29,6	2,09
17	0,336	1,970	2,840	0,406	55,0	30,85	80,0	13,75	44,5	1,90
18	0,273	1,580	2,570	0,330	55,0	44,60	115,5	17,10	38,3	1,57
19	0,330	1,780	2,790	0,400	53,2	61,70	160,0	16,85	27,4	1,36
20		2,050	2,750		73,0	78,55	203,5	16,05	20,4	1,23
21		1,985	3,020		89,0	94,60	244,5			
21	0,418	2,120	3,440	0,520	81,0			13,4	14,2	1,13
21	0,298	1,410	2,140	0,377	122,0	108,0	280,0			
Poussin de 2 jours.	0,238	1,020	1,450	0,309	91,5 (1)		237,5			2,00
					74,0		192,0			3,43

(1) Les poussins sont sortis de l'œuf depuis trois à quatre heures.

naissance. (Tout le contenu intestinal avait cependant été enlevé avec soin dans ces deux cas.)

II. — **Cholestérine.** — Les données concernant l'évolution de la cholestérine sont plus nombreuses, plusieurs auteurs s'étant efforcés d'étudier les possibilités de synthèse de cet élément aux dépens des constituants de l'œuf durant l'incubation.

En ce qui concerne l'embryon lui-même, HANES a constaté qu'à partir du quatorzième jour l'aspect du foie changeait considérablement chez le Poussin. L'organe prend une couleur jaune clair, et le microscope révèle l'existence d'un grand nombre de gouttelettes biréfringentes que les réactions microchimiques permettent d'identifier à la cholestérine. HANES admet que les acides gras provenant d'une hydrolyse de la lécithine au cours du développement sont immobilisés à l'état d'éthers de la cholestérine. MULLER (54), qui a dosé à la fois la cholestérine libre et la cholestérine combinée, a bien constaté une diminution progressive de la première, mais la quantité absolue d'éthers de la cholestérine qu'il a trouvée reste, d'après lui, insuffisante pour fixer dans leur totalité les acides gras provenant de la destruction de la lécithine.

Les chiffres rassemblés dans le tableau II montrent comme pour les phosphatides une augmentation initiale de la cholestérine qui progresse jusqu'au onzième ou au treizième jour, suivant qu'on adopte telle ou telle unité de référence. A partir du treizième jour, les variations constatées dans la teneur en cholestérine ne sont irrégulières que si on fait abstraction de ses variations par rapport à la lécithine. Le rapport moléculaire entre ces deux composés oscille très peu autour de 2 (les oscillations pouvant être l'expression d'un équilibre qui tend toujours à se rétablir).

Enfin, à partir du seizième jour, on constate une diminution régulière de ce rapport qui tend vers l'unité.

L'allure de la courbe donnant l'augmentation de la cholestérine par embryon, au cours de l'incubation, affecte la même forme que celle du phosphore lipidique. Les différences qui existent entre les variations de ces deux composés et qui se volent déjà nettement dans leurs rapports numériques,

ressortent de même de la courbe montrant les accroissements journaliers (courbe 3). Le maximum d'accroissement par vingt-quatre heures se trouve pour la cholestérine deux jours après celui des phosphatides, soit du dix-septième au dix-huitième jour, et la chute se fait bien plus lentement que pour ces derniers.

La courbe 4 montre jusqu'au douzième jour un parallélisme entre les vitesses d'accroissement des phosphatides et de la cholestérine ; le second maximum est plus tardif pour la cholestérine.

Après l'éclosion, il y a, contrairement à ce que nous avons vu à propos des phosphatides, une diminution brusque de la cholestérine, qui deviendra compréhensible lorsque nous la considérerons à la lumière de ce qui se passe dans l'œuf total.

III. — **Les graisses.** — Toutes les données concernant les glycérides ont été citées et analysées dans le travail de NEEDHAM (62). Plus récemment, MURRAY (55) a donné dans un de ses mémoires les variations de la teneur en extrait alcoolique de l'embryon. Mais cette technique grossière, qui ne distingue pas les lipides, les extractifs, la créatine, certains sels, etc., ne permet de montrer qu'une rapide augmentation des graisses à la fin de l'incubation, sans plus. IDZUMI (38), dans un travail important sur l'embryochimie de la Poule, a dosé au cours du développement les acides gras totaux et l'insaponifiable total. Ses chiffres — si l'on tient compte du fait qu'ils nécessitent une correction pour déduire les phosphatides — sont, dans l'ensemble, identiques aux nôtres. IDZUMI a vu une très forte augmentation des acides gras entre le huitième et le onzième jour.

Comme nous l'avons dit plus haut, notre poids d'acides gras totaux est obtenu expérimentalement ; nous en soustrayons celui des acides gras combinés aux phosphatides. On multiplie pour cela le chiffre du phosphore des lipoïdes (exprimé en phosphore) par 17,65. Nous admettons ici que tout le phosphore dosé était sous forme de lécithine, et que les acides gras combinés à la lécithine sont constitués par un mélange d'acides oléique, stéarique et palmitique. Ces

hypothèses sont assez près des faits pour permettre le calcul :

Soit le poids moléculaire moyen d'un acide gras : 274

— — — de la lécithine : 778.

On a donc 2 molécules d'acides gras (548) pour 778 de lécithine à 31 p. 100 de P, soit pour 1 de P $\frac{548}{31} = 17,65$ d'acides gras.

Nous n'avons pas fait de corrections pour les acides gras combinés à la cholestérine (éthers). MUELLER (54), qui a étudié le rapport $\frac{\text{cholestérine libre}}{\text{cholestérine combinée}}$ chez l'embryon de Poule le trouve égal à 90 jusqu'au douzième jour. Cette correction est moins utile encore postérieurement à cette date : nous verrons, en effet, une telle augmentation des acides gras qu'elle ne jouerait plus ⁽¹⁾. (Voir le tableau n° III.)

Le tableau n° IV nous montre, d'un côté, les variations des graisses totales, et, de l'autre, celles de l'extrait alcoolique total pour 100 grammes frais, 100 grammes secs et 100 grammes secs et dégraissés.

Nous constatons, *contrairement* à MURRAY, que l'extrait alcoolique reste grossièrement constant pour 100 grammes secs et dégraissés ; les graisses totales ne présentent pas non plus de variations systématiques.

Les acides gras. — En opposition avec ce que nous avons vu pour le phosphore lipidique et la cholestérine, la teneur en acides gras combinés à la glycérine exprimés pour 100 grammes frais ou secs, augmente continuellement durant tout le développement (v. tableau n° V). Cette augmentation n'est toutefois pas régulière, comme le montre la courbe n° 1 qui, d'abord peu inclinée, monte subitement.

L'accroissement journalier, infime jusqu'au douzième jour, devient vite très important et présente un maximum entre le dix-huitième et le dix-neuvième jour. La courbe de vitesse

(1) BEUMER (9) a constaté une augmentation de la cholestérine combinée à la fin de l'incubation.

TABLEAU III

Age en jours	PAR EMBRYON		CHOLESTÉRINE COMBINÉE		ACIDES GRAS	
	Acides gras s./correction pour éthers de la cholestérine mgr.	Cholestérine mgr.	% de cholesté- rine totale (MUELLER)	mgr.	Combinés à la Cholestérine	Des glycérides mgr.
9	1,2	2,78	10,6	0,294	0,209	1,0
11	5,06	6,79	9,7	0,659	0,467	4,6
13	13,0	13,60	16,3	2,220	1,575	11,42
14	27,4	18,25				
15	59,2	23,80	28,9	6,860	4,860	54,4
16	137,0	30,85				
17	285,0	44,60	25,7	11,50	8,160	277,0
18	493,0	61,70				
19	740,0	78,55	31,7	25,00	17,75	722,0
20	960,0	94,60				
21	1.070,0	108,0	41,3	44,50	31,60	1.039,0

TABLEAU IV

*Variation, en fonction du poids, des glycérides totaux
et de l'extrait alcoolique total au cours du développement.*

Age en jours	GRAISSES TOTALES pour 100 grammes			EXTRAIT ALCOOLIQUE TOTAL pour 100 grammes		
	Frais	Secs	Secs et dégraissés	Frais	Secs	Secs et dégraissés
6.		24,7	32,8			
6.	1,24	23,0	36,3	2,220	35,9	55,9
8.		24,5	38,9	2,450	38,5	62,7
9.	1,265	20,4	32,4		39,8	66,2
11.		22,65	34,50		34,2	51,1
11.		23,45	35,70			
11.	1,530	22,10	35,90			
12.				2,745	33,20	50,45
13.	1,690	19,80	30,70			
15.		24,70	33,00	4,430	33,40	50,20
15.	2,45	22,90	32,60			
15.	2,53	20,5	29,60			
17.	3,76	22,00	31,70	4,750	28,15	39,3
17.		24,50	34,60			
18.	3,78	21,90	31,00			
19.	5,06	38,40	44,50	6,360	36,40	57,4
20.		28,80	44,60			
20.		38,50	51,50			
21.	5,83	29,50	48,00			
21.	5,92	28,00	42,00			

TABLEAU V
Évolution des acides gras des glycérides dans l'embryon au cours du développement.

Age en jours	Pour 400 grammes			Par embryon		Acides gras — 274,0	Accroisse- ment journalier — mgr.	Viscosé d'acr. journalier — %	Ac. gras phosp.lip. —
	frais — gr.	secs — gr.	secs et degré. — gr.	eau — gr.	trouvé — gr.				
8,8	0,122	1,975	3,140	0,131	0,000146	0,000146			0,043
9						0,0012			0,36
10						0,0030		150	0,48
11	0,190	2,760	4,430	0,204	0,00506	0,00506		69	0,535
12						0,0083		63	0,65
13	0,260	3,050	4,730	0,284	0,013	0,013		56,5	0,735
14						0,0274		111,0	1,14
15	0,508	4,760	6,760	0,570	0,0419			116,0	
16	0,815	6,600	9,500	0,930	0,0765	59,2	216	131,0	1,67
17	1,910	11,200	16,150	2,310	0,313		500		2,82
18		13,500	19,100		0,449			108,0	
19	2,080	12,00	17,00	2,510	0,405	0,381	1040	73,0	4,75
20	3,070	17,20	27,00	3,740	0,676		1800	50,0	7,18
21		18,50	30,20	4,57	1,070		2700	30,0	9,8
22	3,660	16,60	25,20	4,43	1,072 (1)		3500	11,5	11,6
23	3,500						3910		12,4

(1) Les poussins sont sortis de l'œuf depuis trois à quatre heures.

d'accroissement journalier — courbe n° 4 — permet de se rendre compte des variations de vitesse de fixation des acides gras par l'embryon. Comme pour les deux autres constituants envisagés plus haut, on constate d'abord une diminution de la vitesse d'accroissement jusqu'au douzième jour, *puis subitement celle-ci passe de 56 à 111 p. 100 pour atteindre 131 p. 100 au quinzième jour*. Ce qui ressort nettement de cette dernière courbe, c'est que cette variation des acides gras n'est nullement en rapport avec celle du phosphore lipidique ou de la cholestérine. Cette indépendance ressort nettement des chiffres expérimentaux ; nous avons analysé, pour le dix-septième jour par exemple, deux séries d'embryons qui ont une teneur identique en cholestérine et en phosphatides, tandis que leur teneur en acides gras diffère de 35 p. 100.

ÉVOLUTION DES MATÉRIAUX AZOTÉS DE L'EMBRYON.

Nous envisagerons :

- 1° L'azote total ;
- 2° L'azote extractif soluble dans l'alcool à 95° bouillant ;
- 3° L'azote des prolides coagulés et extraits par l'alcool bouillant.
- 4° Deux aminoacides : l'arginine et la cystine ;
- 5° Le glutathion.

I. — **Azote total.** — Nous ne nous arrêterons pas à décrire les variations de l'azote total de l'embryon au cours du développement ; son accroissement a déjà été décrit dans le travail cité plus haut de LE BRETON et SCHAEFFER (41) et nos chiffres personnels sont en tous points comparables aux leurs. La courbe a une forme en S ; l'accroissement journalier donne une courbe en cloche ; l'intérêt de ces données est limité par le fait que l'azote total est l'expression d'une *somme* représentative de constituants très divers.

II. — **Substances extractives azotées.** — Là encore, il s'agit de tout un groupe de substances : choline, créatine, etc. Seule la créatine a été dosée isolément (MELLANBY, NEED-

du corps varie considérablement aux divers stades de l'embryogenèse, et nous ignorons si la constitution des protides est identique pour tous les organes et si elle est la même d'un stade à l'autre pour un organe déterminé.

Le tableau n° VI donne les résultats obtenus ; chaque détermination est faite sur une poudre homogène provenant de plusieurs embryons et dont on emploie 0 gr. 800. La titration de l'ammoniac obtenu après un KJELDAHL se fait par distillation. Les chiffres montrent que la teneur en azote des protides embryonnaires est approximativement constante. Comment interpréter ce résultat ? que signifient les faibles variations constatées ?

Évidemment, même après avoir appliqué aux tissus secs et dégraissés la méthode de JEANNEY, nous ne pouvons pas considérer la poudre obtenue comme constituée par des *protides purs* au sens que l'on donne à ce terme dans le cas de l'ovalbumine ou de l'édestine cristallisée. Mais la quantité de cendres qui reste étant toujours inférieure à 1 p. 100, le pourcentage d'azote très serré obtenu, constamment voisin de 15,5 p. 100, demande une interprétation.

Nous ne pouvons faire *a priori* que deux hypothèses :

1° Les faibles différences observées d'un stade à l'autre dans les protides du Poulet sont bien dues à ce qu'ils sont constitués d'un moment à l'autre par des proportions différentes de protides variés. Au cours du développement, les divers organes ne se développent pas avec la même vitesse, et l'on sait que la partie céphalique est dans les premiers jours prépondérante par sa masse, puis qu'ultérieurement le foie l'emporte sur tous les organes viscéraux. Les muscles se développent ultérieurement. Si les protides des tissus n'ont pas la même composition en acides aminés, et partant pas le même pourcentage en azote, on comprend le retentissement que doivent avoir les variations de proportions de chacun d'eux sur le tout. Les variations observées ne peuvent être grandes puisque, si l'on consulte les tableaux d'analyse classiques, *on voit qu'en dépit de variations importantes dans la composition en acides aminés, la teneur de toutes les albumines animales reste voisine de 16 p. 100.*

2° On peut supposer, au contraire, que les petites variations

constatées n'ont pas de sens et qu'elles correspondent à une purification incomplète des protides. Tous les tissus à tous les stades contiendraient en moyenne 15,5 p. 100 d'azote, et cette constance traduirait — autre hypothèse — une identité, aux différences d'isomérisie près, dans la composition de tous les protides, à tous les stades.

La teneur en azote total des protides est une donnée trop élémentaire en elle-même pour nous permettre de trancher entre ces deux hypothèses. Nous pourrions évidemment nous adresser à des méthodes donnant la composition détaillée des protides, leur teneur *exacte* en chacun des aminoacides constitutants. Mais de telles méthodes existent-elles ? Nous ne le croyons pas et nous avons exposé ailleurs (Th. CAHN et A. BONOT) (17) les raisons de cette croyance. Pouvons-nous tout au moins doser quelques acides aminés avec une très grande précision ? Nous avons tenté de le faire.

1° **Arginine.** — Nous nous sommes d'abord adressés à l'arginine, constituant qui ne manque dans aucun des protides connus à l'heure actuelle, parce que nous avons montré dans un travail publié ailleurs (A. BONOT et Th. CAHN) (17) qu'on pouvait le doser avec une erreur qui ne dépasse pas 2 p. 100 si on respecte la technique instituée par nous. Les hydrolysats de protides étant soumis à l'action de l'arginase, l'arginine est décomposée quantitativement en ornithine et urée. On dose alors pondéralement l'urée par la méthode de FOSSE au xanthidrol. Tous nos dosages ont été faits en double, et pour nous mettre à l'abri d'une diminution d'activité du ferment au cours des soixante-douze heures de dédoublement, nous avons toujours opéré sur deux prises identiques d'hydrolysat auxquelles on ajoutait dans l'une 0 gr. 10, dans l'autre 0 gr. 05 de ferment, toutes conditions égales d'ailleurs. Les quantités de protides sur lesquelles portaient les dosages variaient de 1,5 à 2 grammes, qui après hydrolyse étaient séparées en deux prises égales, et les poids de dixanthylurée pesés de 125 à 180 milligrammes. Entre deux dosages, les différences étaient le plus fréquemment nulles, ou inférieures à 1 p. 100. La quantité d'acide acétique à 70 p. 100 dans laquelle on faisait la précipitation de la

HAM, SENDJU). Rappelons que MELLANBY a cru pouvoir établir un rapport entre le développement du foie et l'accumulation de la créatine dans l'embryon.

Dans nos recherches nous obtenions l'azote extractif en deux fractions ; l'une était constituée par l'azote soluble dans la benzine anhydre et correspondait sensiblement à l'azote de la choline des phospholipides ; l'autre forme correspondait à l'*azote extractif vrai*, soluble dans l'alcool à 90-95°, insoluble dans la benzine anhydre, et soluble dans l'eau.

Nous ne donnerons pas tous ces chiffres ; bornons-nous à indiquer que l'azote extractif total fait à peu près 10 p. 100 de l'azote total jusqu'au quinzième jour, puis seulement 5,5 à 7 p. 100 depuis cette date jusqu'à l'éclosion.

III. — **Les protides.** — Par coagulation, puis extraction à l'alcool bouillant suivant la technique indiquée plus haut, on obtient à partir du corps des embryons des protides qu'on peut réduire en poudre fine au moyen d'un moulin à plateaux. Outre des cendres, un peu de glycogène (à partir du douzième jour), la poudre de protides ⁽¹⁾ obtenue contient encore quelques matières extractives insolubles dans l'alcool bouillant. Le glycogène est pondéralement négligeable et ne saurait être pris en considération ; il se trouve éliminé en partie avec les extractifs restants et les cendres si on reprend trois ou quatre fois les poudres d'embryons avec une solution d'acide acétique à 0,25 ou 0,5 p. 100 en volume (acide acétique cristallisable). Ces extractions se font à l'ébullition. Nous reviendrons plus tard sur la valeur de cette technique empruntée à JEANNEY ⁽²⁾ : bornons-nous à signaler que l'extraction des cendres n'est pas totale ⁽³⁾, et que l'eau acétique, si elle enlève

(1) Dans les stades avancés cette poudre contient des substances albuminoïdes provenant du squelette et des plumes. Vu que notre étude porte, en partie, sur la différenciation chimique des substances albuminoïdes de tout l'organisme, il était naturel de ne pas séparer ces formations du reste de l'embryon.

(2) Cet auteur n'appliquait sa méthode que dans le cas d'un tissu isolé : le muscle.

(3) Les cendres restant après emploi de ce procédé représentent une fraction de 0,5 à 1 p. 100 de la poudre extraite.

bien les extractifs restants, fait par ailleurs passer en solution des protides précipitables par l'acide trichloracétique. Mais comme les protides extraits — nous nous en sommes assurés — ont sensiblement la même constitution que l'albumine restante, comme la quantité de cendres qu'on ne peut enlever est fort minime, on ne commet qu'une faible erreur en considérant la poudre obtenue par extraction à l'alcool, puis à l'acide acétique étendu, comme une poudre de protides purs, dans le cas des embryons.

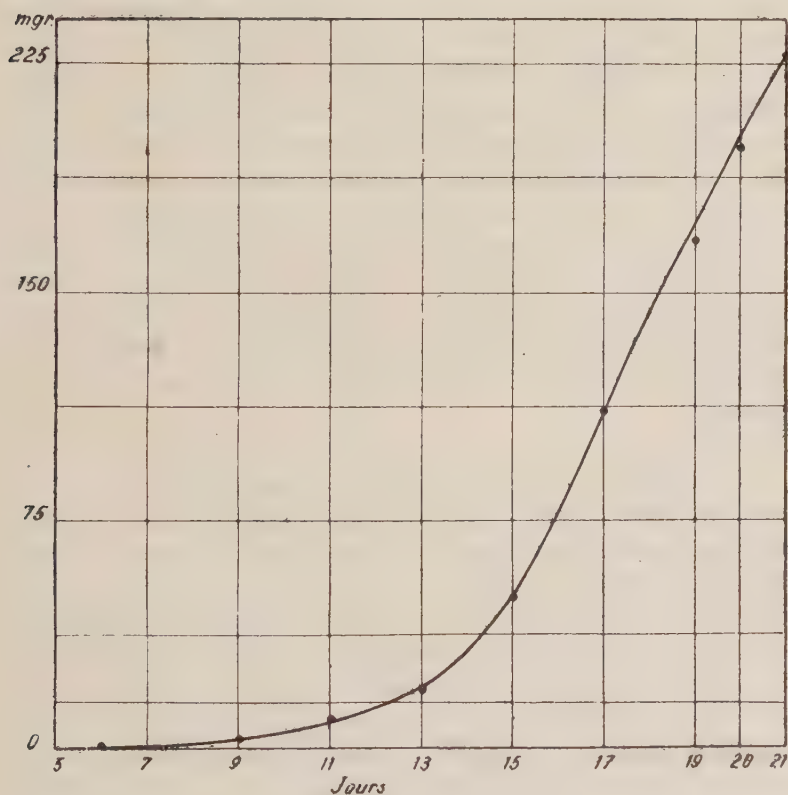
TABLEAU VI

Teneur en azote total de la poudre de protides sèche et dégraissée, provenant d'embryons aux différents stades du développement.

AGE EN JOURS	AZOTE TOTAL POUR 100 GRAMMES	
	De la poudre sèche et dégraissée	De la même poudre après extraction des cendres
5.		15,85
6.	15,05	16,1
8.		15,55
9.	15,12	
9.	15,15	15,75
11.	14,83	15,70
11.	15,10	15,65
13.	14,85	15,55
15.	14,75	
15.	14,70	15,70
15.	14,80	15,50
15.	14,80	15,50
17.	14,85	
17.	13,85	15,35
17.	14,85	15,35
19.		
19.	14,55	15,55
20.	14,65	
20.	14,60	
21.	14,15	15,50
21.	14,45	
23.	14,20	

Nous n'avons pas trouvé de données sur la teneur en azote des albumines de l'embryon de Poulet au cours du développement. On pourrait *a priori* la supposer moins constante que celle signalée par JEANNEY dans le muscle des animaux, car la part que prennent les différents organes au poids

de chose près la même concentration en arginine. La diminution de pourcentage vers la fin de l'incubation (à partir du dix-septième jour) est due à l'augmentation de la teneur en substances minérales de la poudre extraite, comme le montre le chiffre du vingt et unième jour, correction faite des cendres. Dans un travail antérieur (19) nous



Courbe n° 6. — Évolution de l'arginine dans les protides de l'embryon.

avons pu montrer la constance de la teneur en arginine du muscle de chien au cours d'états différents (jeûne, atrophie), et nous avons interprété ceci par l'hypothèse que toute molécule albuminoïde possède un groupement central, groupement prosthétique (KOSSEL), dont l'arginine déterminerait la grandeur. Les faits que nous apportons aujourd'hui confirment pleinement cette hypothèse. Un autre fait est

non moins intéressant : non seulement les protides musculaires dans des conditions physiologiques variées, mais encore le mélange des protides de l'embryon au cours du développement, ont une teneur en arginine constante, et cette teneur est à peu de chose près la même. Nous pouvons donc faire l'hypothèse suivante : *La molécule protidique des tissus possède un noyau central dont l'arginine est le représentant qualifié, et ce noyau central paraît être le même pour tous les protides des tissus de l'embryon de Poule.* Au cours de notre prochaine publication sur les variations de composition des organes dans le jeûne, nous verrons dans quelle mesure cette hypothèse se confirme d'espèce à espèce pour des tissus homologues et si elle peut être généralisée à tous les tissus.

La constance de teneur en arginine, remarquons-le, n'est qu'approchée. Les écarts de 5 p. 100 observés ne proviennent pas d'erreurs expérimentales ; mais toute interprétation sera rendue plus facile par la connaissance des variations ou de la fixité d'un autre acide aminé n'appartenant pas au noyau central.

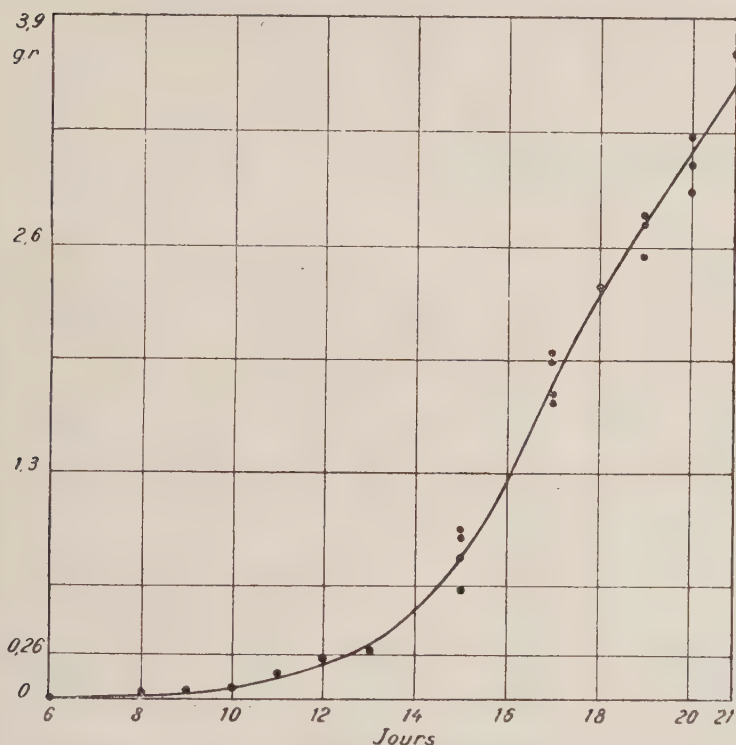
2° Cystine. — Notre choix s'est porté sur la cystine pour plusieurs raisons. C'est le seul constituant de la molécule des protides qui contienne du soufre et le dosage en peut par suite paraître facile *a priori*. Par ailleurs, si l'on dose simultanément la cystine, et le glutathion qui doit appartenir aux phases protoplasmiques plus dispersées de la cellule, dont le rôle dans les oxydations cellulaires a été mis en évidence par HOPKINS, on peut espérer mettre en évidence un équilibre cystine $\rightleftharpoons$ glutathion dont les variations seraient significatives, au cours du développement embryonnaire.

MURRAY (59) a déjà dosé le glutathion au cours du développement de l'embryon de poule (méthode de TUNNICLIFFE). En construisant la courbe des variations de concentration du glutathion par rapport au poids sec de l'embryon en fonction de l'âge, il voit une chute régulière parallèle à celle du rapport nucléoplasmatique établie par LE BRETON et SCHAEFFER.

Nous avons effectué deux séries de dosages. Dans une première série, nous avons extrait les embryons débarrassés de

dixanthylurée était de 100 centimètres cubes, on ajoutait 5 centimètres cubes d'une solution à 10 p. 100 de xanthidrol. La correction à effectuer pour la solubilité de ce composé dans un milieu ainsi constitué est exactement de 4 milligrammes, comme nous l'ont montré plusieurs vérifications ⁽¹⁾.

Les résultats obtenus pour le dosage de l'arginine ont été



Courbe n° 5. — Évolution du poids sec et dégraissé de l'embryon.

(¹) Il faut ajouter qu'on ne doit pas employer, au moins pour des quantités d'arginine à doser aussi faibles, un grand excès de ferment (0 gr. 1 au plus). Dans certaines préparations d'arginase, on constate pour de grandes quantités (de l'ordre de 1 gr.) une formation d'urée. Cette formation d'urée se voit si on met le ferment en présence d'un hydrolysât de tissus ; la présence d'ammoniaque ne semble pas la favoriser. Il ne s'en forme jamais de quantités appréciables pour un poids de ferment inférieur à 0 gr. 05. Cette quantité de ferment actif est suffisante pour hydrolyser quantitativement 150 milligrammes d'arginine.

rapportés soit à 100 grammes d'embryon sec et dégraissé, soit à 100 grammes de protides, ou bien encore — la constance du pourcentage d'azote nous y autoise — à 100 grammes d'azote de la matière sèche et dégraissée, ou à 100 grammes d'azote des protides. L'action perturbatrice des cendres est éliminée dans ce cas.

Le tableau n° VII contient nos données sur les variations de l'arginine dans l'embryon.

TABLEAU VII
Évolution de l'arginine dans l'embryon de Poule.

Age en jours	PAR EMBRYON		POUR 100 GRAMMES		
	Expériences mgr.	Courbe mgr.	de protides secs et dégraissés gr.	de protides sans cendres gr.	d'azote des protides gr.
5.			6,8		46,0
6.	0,66	0,66		7,16	
7.		1,14			
8.		2,10	6,80		47,0
9.	3,30	3,30	7,0		46,2
10.		5,20			
11.	8,1	8,10	7,16		47,3
12.		13,2			
13.	19,0	19,0	6,90	7,20	46,3
14.		32,0			
15.	50,5	50,5	7,10		48,0
16.		75,0			
17.	117,0	105,0	6,55		
18.		140,0			
19.	169,0	172,0	6,72		46,0
20.	192,0	203,0	6,45		
21.	228,0	228,0	6,45	7,10	45,6

Nous avons donné dans la première colonne de ce tableau l'évolution de l'arginine de stade en stade et par embryon pour la durée de la vie embryonnaire. Ces données se trouvent réunies dans la courbe n° 6. Sur la courbe n° 5 nous avons indiqué l'accroissement total du poids sec et dégraissé. L'allure de ces deux courbes est identique.

La constance relative de la teneur en arginine est frappante. Malgré une différenciation très accusée, 100 grammes secs et dégraissés gardent pendant tout le développement à peu

soit par rapport à la cystine, soit par rapport à l'azote total. On constate que le rapport entre la cystine et l'azote protidique est loin d'être constant ; fait que nous retrouvons dans le tableau n° IX (2^e série).

TABLEAU IX
Évolution de la cystine dans l'embryon.
(Les chiffres sont exprimés en cystine.)
Deuxième série.

Age	Par embryon mgr.	Pour 100 grammes de protides gr.	Pour 100 grammes d'azote gr.
5.	0,169	3,61	22,80
8.		4,25	27,00
9.	1,99	4,37	28,20
11.	4,35	4,38	27,00
13.	10,15	4,87	24,60
15.	24,80	4,20	27,10
17.	95,00	5,10	33,20
17.	88,00	5,97	38,70
21.	162,00	5,03	32,60

Les chiffres de cystine sont très comparables dans les deux séries. Par rapport à 100 grammes de protides, la cystine est variable. On pourrait admettre que son augmentation vers la fin de l'incubation est due simplement à l'apparition des plumes qu'on sait très riches en cet acide aminé, vue leur teneur en kératine. Nous ne croyons pas que cet argument soit valable. L'importance pondérale des plumes par rapport à l'embryon total est, vers le dix-septième jour, très faible.

Nous avons au total recueilli trois données au cours de l'étude de l'évolution des substances albuminoïdes durant l'ontogénèse.

1^o L'azote total de 100 grammes de la poudre sèche, dégraissée et sans cendres, reste, malgré une différenciation morphologique très accusée, à peu près constant. Nous avons dit plus haut que cette donnée est trop élémentaire pour nous renseigner sur des variations possibles de composition des protides.

2^o La constance (à 5 p. 100 près) de la teneur en arginine de la poudre sèche dégraissée et sans cendres nous a conduits

à formuler l'hypothèse de l'existence dans la molécule protidique d'un noyau central toujours identique, dont l'arginine serait le représentant qualifié.

3° La teneur en cystine, acide aminé indispensable, présente des variations allant jusqu'à 45 p. 100 (tableau IX).

La constance d'un acide aminé et la variation d'un autre renforcent, croyons-nous, l'hypothèse de travail, formulée antérieurement. Nous admettons que la molécule protidique est constituée par un noyau central fixe, dont l'arginine est un constituant essentiel; ce noyau est entouré de plusieurs chaînes latérales plus labiles qui sont le siège de transformations sur lesquelles nous reviendrons.

*
* *

Il nous reste encore un mot à dire au sujet de la signification des courbes traduisant l'évolution des divers constituants de l'embryon. Nous avons fait remarquer plus haut que nos courbes représentent l'évolution d'un *constituant défini*, et non l'augmentation pondérale progressive d'un *ensemble de substances*, comme le poids frais ou sec. Or, c'est sur la courbe qui donne l'augmentation du poids total qu'on s'est basé pour comparer la croissance à une réaction monomoléculaire autocatalytique (ROBERTSON, etc.). Les chiffres de BRODY et RAGSDALE sur l'augmentation pondérale de différents animaux au cours du développement concordent très bien avec cette théorie, et la comparaison est *a priori* justifiée. Les deux processus, catalyse et croissance, sont toutefois trop dissemblables *dans leur essence* pour pouvoir être identifiés. La similitude des courbes, comme l'a déjà fait remarquer MURRAY en critiquant ce rapprochement, ne peut avoir de signification profonde.

L'objection fondamentale et qui ressort de nos chiffres consiste en la différence très grande de composition de l'organisme au début et à la fin du développement. Si l'augmentation des acides gras présente la même allure que l'augmentation des autres composés lipidiques — ainsi que le montrent les figures nos 1 et 2 — la courbe de la dérivée logarithmique nous montre toutefois une différence essentielle entre les

leurs membranes et finement broyés dans du sable avec de l'acide trichloracétique et nous avons dosé, d'une part, dans le liquide d'extraction, d'autre part, dans le résidu hydrolysé : premièrement le soufre minéral, deuxièmement le soufre total. Par différence on obtient ainsi le soufre organique dans les deux fractions. Le soufre libre est dosé sous forme de sulfate de baryum ; le soufre total sous forme de sulfate de benzidine ⁽¹⁾. suivant les indications de M^{me} B. POHORECKA-LELESZ (73). La minéralisation par l'acide azotique fumant est effectuée dans l'appareil décrit par A. VILA et R. ANCELLE (91). Le dosage du soufre est, dans ces conditions, quantitatif ; la différence entre deux prises analysées ne dépasse pas 2 p. 100.

Le fait qu'on obtient le soufre organique total par différence diminue la précision de ce chiffre ; de plus, l'extraction à l'aide d'acide trichloracétique est très laborieuse dans les stades avancés, de sorte qu'on peut commettre une erreur sur le soufre organique soluble. Cette erreur peut augmenter dans les derniers stades du développement, car la quantité de soufre organique soluble est très faible.

Dans une deuxième série, nous avons dosé la cystine sur la poudre obtenue après extraction alcoolique des embryons. Pour éliminer les composés sulfurés solubles et les sels minéraux, nous avons fait bouillir à plusieurs reprises nos poudres dans un grand excès d'eau acidulée par l'acide acétique. Comme nous le disions plus haut, on solubilise ainsi une partie des protides, dont on peut tenir compte, et l'erreur commise sur la cystine ne dépasse guère 1 p. 100.

(1) Dans le dosage du soufre total du liquide trichloracétique la présence de quantités importantes de sels de chaux rend la précipitation à l'état de sulfate de benzidine dans le produit de minéralisation sujet à des erreurs par défaut.

Le tableau n° VIII donne les résultats de la première série.

TABLEAU VIII

Variation des différentes formes de soufre organique dans l'embryon.
Première série.

Age en jours	CYSTINE (exprimée en cystine)		GLUTATHION (exprimé en soufre)		Soufre organique total	Soufre total
	Pour 100 gr. frais gr.	Par embryon mgr.	Pour 100 gr. frais gr.	Par embryon mgr.	Par embryon mgr.	Par embryon mgr.
8. ...	0,142	1,42	0,019	0,18	0,56	0,715
10. ...	0,135	2,18	0,020	0,33	0,91	1,202
13. ...	0,236	13,10	0,023	1,27	4,77	5,42
15. ...	0,240	21,00	0,039	3,41	9,01	10,37
17. ...	0,454	75,00	0,016	2,74	22,74	24,94
21. ...	0,502	158,00	0,025	7,90	50,10	57,12

Jours	RAPPORTS			
	Cystine	Cystine	S. du glutathion	Soufre organ. total
	Azote total	Azote protidique	Azote total	Azote total
8	21,4	24,4	2,78	8,5
10			2,73	7,75
13	24,5	27,3	2,36	8,90
15.	20,6	22,8	3,34	8,80
17.	25,3	27,4	0,92	8,66
21.	25,5	27,5	1,27	8,07

Nos résultats ne confirment pas pleinement ceux obtenus par MURRAY sur le glutathion. Il faut faire remarquer que les méthodes employées par MURRAY, d'une part, et par nous, d'autre part, sont différentes ⁽¹⁾. Le soufre organique qui passe dans l'acide trichloracétique n'est-il constitué que par le glutathion ? BENEDICT et ses collaborateurs ont pu isoler du sang, tout récemment, un corps soufré qu'ils nomment la thionéine. Existe-t-il dans les organes ? Nous ne possédons aucune donnée à ce sujet. Il ressort nettement de nos chiffres que le glutathion diminue fortement au cours de l'incubation,

⁽¹⁾ Cette différence existe en fait, bien que pour TUNNICLIFFE (*Biochem. Jnal*, t. XIX, p. 194) elles soient théoriquement identiques : Il contrôle les chiffres obtenus par sa méthode à l'iode, en dosant le Soufre organique soluble dans l'acide trichloracétique à l'état de sulfate de baryte.

DEUXIÈME PARTIE

Variations qualitatives et quantitatives des constituants de l'œuf autres que l'embryon, au cours du développement

On ne peut arriver à une représentation exacte des phénomènes qui se passent dans l'œuf de Poule au cours du développement, si on ne prend pas en considération les transformations qui se passent dans *le reste de l'œuf, membranes comprises*. Toutefois, une certaine prudence sera nécessaire dans l'interprétation des résultats expérimentaux : en dépit d'un choix minutieux d'œufs de même poids au départ, de conditions d'incubation aussi identiques que possible, il sera toujours difficile de se mettre à l'abri de faibles variations de composition pouvant annuler ou exagérer un phénomène.

Utilisant les méthodes plus haut décrites à propos de nos recherches sur l'embryon, nous allons exposer quelles mutations ont été observées dans le reste de l'œuf, pour chacun des constituants qui nous intéressent ici spécialement.

I. — Lipides. — Les extractions alcooliques portant sur de grosses quantités de matière ont été pratiquées dans de grands appareils de KUMAGAWA, où nous les poursuivions vingt heures.

a) *Graisses et phosphatides.* — De l'ensemble de nos chiffres, que nous ne donnerons pas ici, on tire les indications suivantes :

Dans l'œuf total, il y a au départ 4,5 grammes d'*acides gras totaux* et à la fin du développement 3,130 grammes dont 1,260 grammes dans l'embryon et 1,870 grammes dans le reste de l'œuf. Ceci montre que les lipides constituent bien une

importante source d'énergie chimique, à laquelle puise le poulet au cours du développement.

Les *phosphatides*, nous le savons, représentent une réserve d'acides gras et de phosphore organique dans laquelle l'embryon trouvera la matière première de ses propres phosphatides et, en outre, un des éléments d'édification de son squelette. Tandis que l'œuf total contient au départ 65,4 milligrammes de phosphore lipidique, il n'en reste plus que 32,6 milligrammes au vingt et unième jour : donc, 50 p. 100 du phosphore sont passés sous une autre forme. On ne peut calculer, dans le cas du reste de l'œuf, les acides gras correspondant au phosphore lipidique comme on l'a fait dans le cas de l'embryon. En effet, on sait depuis les travaux de THIERFELDER, LEVENE, FOURNEAU, que le jaune de l'œuf contient à côté de la lécithine vraie (monaminophosphatide), d'autres phosphatides où le rapport des acides gras au phosphore est différent : les acides gras qui reviennent aux glycérides échappent par suite au calcul.

b) *Cholestérine*. — Au départ l'œuf total contient 259 milligrammes de cholestérine ; au vingt et unième jour on en retrouve 252. Il n'y a donc pas eu de variations de ce composé. Il en passe la moitié dans l'embryon, l'autre reste dans le résidu de l'œuf et dans les membranes. On trouve bien d'un stade à l'autre des différences de teneur en cholestérine pour l'œuf total, mais de légères variations dans la composition des œufs peuvent, peut-être, suffire à les expliquer sans invoquer une destruction suivie de synthèse nouvelle.

II. — **Substances azotées.** — 1^o *Produits du métabolisme azoté de l'embryon.* — On sait depuis longtemps que dans le liquide amniotique et allantoïdique de l'œuf de poule il s'accumule pendant le développement des produits de dégradation des protides (ammoniaque, urée, acide urique). Nous avons vu dans la première partie de ce travail que l'allantoïde seule peut être regardée comme « vessie » de l'embryon, qu'il s'agisse du fonctionnement du mésonephros ou du rein définitif. A partir d'un certain stade l'allantoïde contribue à l'absorption du jaune, et la mise en évidence des produits d'excrétion y devient plus difficile ; à la même époque (dix-

variations de ces composés. On constate, en effet, une augmentation très grande de la vitesse d'accroissement des acides gras au douzième jour, sans que rien, apparemment, n'explique cette variation.

La deuxième objection que soulève à notre avis une telle comparaison est la suivante : le développement de l'embryon se fait à l'intérieur d'un système fermé par simple passage des substances qui formeront l'embryon en un point déterminé de l'œuf. Les processus physicochimiques mis en jeu ne nous semblent en rien éclairés par une comparaison avec un processus chimique : la réaction monomoléculaire autocatalytique. Comme nous le verrons au cours de ce travail, les *synthèses* qui se font dans l'œuf représentent en poids une très faible partie de l'embryon. Nous avons toutefois tenté de faire cette comparaison. Mais il faut faire remarquer qu'on ne peut pas se servir indifféremment de toutes les substances. Les acides gras, par exemple, servent, comme nous le verrons dans la suite, en dehors de la construction de l'embryon, à couvrir la majeure partie des dépenses énergétiques de celui-ci. Leur diminution continuelle dans l'œuf total rend l'application de toute formule illusoire. Il en est de même en ce qui concerne le phosphore lipoïdique, dont une partie très importante est transformée en phosphore minéral au cours de l'incubation. Au contraire, l'arginine satisfait à tous les desiderata. La teneur par œuf est à peu près constante, il n'y a aucune destruction ni synthèse qui changent sa concentration dans l'œuf total, comme nous le verrons dans la deuxième partie de notre travail, et son importance ressort suffisamment des faits cités plus haut. On peut donc voir si la courbe de son passage dans l'œuf offre une similitude complète avec celle d'une réaction monomoléculaire autocatalytique. Nous ne donnerons pas les résultats de tels calculs, et nous nous bornerons à indiquer que les valeurs théoriques calculées ne correspondent en rien aux résultats expérimentaux. L'objection que le nombre des embryons examinés est trop petit pour que l'on puisse prendre des moyennes est peut-être valable, mais le grand nombre d'œufs examinés par nous (plus de 1.000) remet alors la solution à une date bien éloignée ! Le fait que l'em-

bryon n'a à sa naissance utilisé que 60 p. 100 de l'arginine présente dans l'œuf pourrait de même être invoqué pour expliquer la différence avec une réaction où théoriquement la totalité des substances présentes entre en réaction.

Nous voudrions toutefois attirer l'attention sur le fait que la dérivée logarithmique de tous les corps étudiés par nous diminue plus ou moins régulièrement au cours du développement. *Aucune de ces courbes n'a l'allure de celle donnée par LE BRETON et SCHAEFFER pour les variations de vitesse de formation de l'acide nucléique qui a la forme d'une cloche très régulière.* La signification profonde de toutes ces variations reste inconnue.

Faute d'une comparaison physico-chimique simple, valable et satisfaisante, avec le développement d'un système aussi hétérogène que l'embryon, on pourrait se contenter d'un rapprochement entre les modalités des modifications chimiques observées pendant l'embryogenèse et la différenciation morphologique. Ce serait donner à la structure la valeur d'un facteur déterminant de la différenciation chimique. Nous ne croyons pas à la fécondité d'un tel rapprochement.

septième jour), il y a communication du cloaque avec la cavité amniotique.

Le liquide amniotique, liquide de sécrétion, ne contient jusqu'au douzième jour que des traces de substances azotées. L'augmentation brusque de sa teneur en azote à la fin de la deuxième semaine est due à l'établissement d'une communication entre le sac albuminoïde et l'amnios (GARTNER).

NEEDHAM (63-65) a publié, dans une série de mémoires récents, ses déterminations d'urée, d'ammoniaque, et d'acide urique dans les liquides d'excrétion de l'embryon de stade en stade ; FISKE et BOYDEN (25) ont dosé l'acide urique jusqu'au treizième jour dans le liquide allantoïdique et dans le liquide amniotique. La quantité d'ammoniaque qu'on trouve dans les liquides d'excrétion est insignifiante ; NEEDHAM voit une diminution constante de ce composé par rapport à 100 grammes secs ou frais. La teneur maximale par embryon (les dosages n'ont été faits que jusqu'au quinzième jour) est de 0,05 milligramme ; son rôle en tant que métabolite est donc négligeable. L'urée, dosée de même par NEEDHAM ⁽¹⁾ ne rentre pas non plus en ligne de compte : le maximum d'urée trouvé chez l'embryon du dix-neuvième jour est de 1,5 milligramme. Par rapport à 100 grammes secs, on constate un maximum de teneur en urée le neuvième jour.

Les résultats fournis par le dosage de ces deux composés ne peuvent pas surprendre chez un oiseau, où normalement *tous les protides métabolisés* ont l'acide urique comme terme d'oxydation ; ils sont confirmés par les recherches de FISKE et BOYDEN qui dosent, à côté de l'acide urique, l'azote total des liquides d'excrétion. La teneur maximale en azote résiduel (les dosages n'ont été faits que jusqu'au treizième jour) est de 2,33 milligrammes.

(1) La méthode de dosage de l'urée appliquée par NEEDHAM est sujette à critique, mais l'approximation de ses résultats est suffisante pour l'usage que nous en faisons ici.

TABLEAU I

Acide urique trouvé dans les liquides d'excrétion de l'embryon de poule en milligrammes, d'après les données des différents auteurs, au cours du développement.

Age en jours	FISKE ET BOYDEN		NEEDHAM		FRIDERICIA	
	Expérien- tales mgr.	Courbe mgr.	Expériences mgr.	Courbe mgr.	Expériences mgr.	Courbe mgr.
5	0,055	0,055				
6	0,33	0,33	0,002	0,002		
7	0,72	0,72	0,011	0,011		
8	1,77	1,50	0,085	0,085		
9	2,87	2,87	0,96	0,96		
10	4,33	4,33	1,60	1,60		
11	7,10	6,90	2,75	2,75	3,50	3,50
12	10,6	10,6	1,15	3,90	5,20	4,95
13	15,06	15,06	5,50	5,80	5,50	7,20
14		(19,40)	7,50	7,50	11,70	11,70
15		(25,60)	9,80	9,90	18,60	18,60
16		(32,50)	12,50	12,60	29,10	29,10
17		(39,75)	15,3	15,60	42,80	42,80
18		(48,95)	19,4	19,20	51,00	51,00
19		(59,00)	24,0	23,40	57,90	57,90
20			30,0	29,10	64,80	64,80

Les chiffres mis entre parenthèses sont calculés d'après la courbe théorique en admettant que celle-ci reste parallèle à la courbe obtenue avec les données de FRIDERICIA (27).

L'acide urique a été dosé dans les liquides d'excrétion de l'embryon par FRIDERICIA, NEEDHAM, FISKE et BOYDEN : ces derniers auteurs ne l'ont encore dosé ici que jusqu'au treizième jour. Nous donnons ci-dessus les chiffres tirés des trois mémoires cités (tableau I) ; comme on peut s'en apercevoir, ces chiffres sont loin d'être homogènes.

Les chiffres de NEEDHAM sont nettement plus faibles que ceux des autres auteurs. Le principe de sa technique est bon : toutefois les indications qu'il donne ne sont pas suffisantes pour que l'on puisse affirmer la rigueur de ses résultats. L'acide urique est extrait par NEEDHAM dans le premier temps de sa méthode grâce à un broyage (avec du quartz) des membranes de l'œuf dans de l'eau acidulée à l'acide acétique. La première extraction (si nous comprenons bien

le texte) est faite au bain-marie pour coaguler les protides. Comme l'indiquent FRIDERICIA, FISKE et BOYDEN, l'acide urique se trouve sous forme d'urate cristallisé très adhérent à la paroi de l'allantoïde, et comme l'acide urique se dissout difficilement, nous ne savons pas si les extractions pratiquées suffisent pour tout dissoudre. FISKE et BOYDEN ont dû employer de l'acide chlorhydrique très concentré pour décomposer les cristaux d'urate et les faire passer en solution. Après précipitation par le chlorure d'ammonium en milieu ammoniacal et lavage, NEEDHAM transvase le précipité d'urate d'ammoniaque dans un bécber en s'aidant d'eau chaude ; il ajoute de l'HCl concentré et laisse cristalliser l'acide urique pendant la nuit. Or, on sait que la cristallisation n'est quantitative *que dans un volume très petit* d'acide chlorhydrique. (FRIDERICIA fait ses cristallisations dans 7 cc.). NEEDHAM ne donne aucune précision à ce sujet. La critique formulée par NEEDHAM au sujet des chiffres élevés de FRIDERICIA, qui aurait dosé d'après lui les bases puriques avec l'acide urique, n'est pas recevable, car FRIDERICIA a opéré sur les membranes seules, qui ne contiennent que des traces de bases puriques ⁽¹⁾. FRIDERICIA a vérifié sa technique de telle sorte que la rigueur nous en paraît hors de cause.

La méthode de FOLIN, utilisée par FISKE et BOYDEN, est loin d'être aussi rigoureuse que celle de FRIDERICIA, ce qui peut en partie expliquer les différences entre les résultats de ces auteurs.

Les poids des embryons indiqués par FISKE et BOYDEN sont plus grands que ceux des autres physiologistes ; la production d'acide urique par gramme d'embryon est, par contre, plus faible que chez FRIDERICIA et les variations de ce composé ne sont pas systématiques. Le maximum se place le huitième jour. On constate, en se servant des chiffres de FRIDERICIA, une diminution nette de la production d'acide urique vers la fin du développement. Le tableau suivant permet de se rendre compte de ces faits.

(1) Notons par ailleurs en faveur de la méthode de FRIDERICIA qu'il n'a jamais pu déceler d'acide urique chez des embryons du dix-septième jour où il y avait certainement des bases puriques.

TABLEAU II

Acide urique excrété par gramme d'embryon.

Jours	Fiske et Boyden	Jours	Fridericia
5	0,187 mgr.	13-14	0,90
6	0,415 —	14-15	0,73
7	0,382 —	15-16	0,84
8	0,670 —	16-17	0,89
9	0,475 —	17-18	0,37
10	0,421 —	18-19	0,36
11	0,564 —	19-20	0,29
12	0,515 —		
13	0,504 —		

La chute de production observée vers le dix-septième et le dix-huitième jour est contemporaine de la chute de pourcentage de l'azote nucléique indiquée par LE BRETON et SCHAEFFER et d'une diminution dans la grandeur d'accroissement journalier du poids.

Au total, nous avons une production de 65 milligrammes d'acide urique au cours du développement de l'œuf, qui correspond à la dégradation de 135 milligrammes de protides. La combustion de ces protides a libéré 0,49 calories, représentant 4 à 4,5 p. 100 des échanges totaux (voir *Troisième partie*).

2° *Protides résiduels dans le reste de l'œuf.* — Nous venons de voir qu'on peut facilement identifier les produits de dégradation des protides métabolisés par l'embryon. Mais comment suivre quantitativement les mutations des protides dans le reste de l'œuf ? Que deviennent l'albumine, la globuline du blanc d'œuf, l'ovomucoïde, les phosphoprotéines (ovovittelline) ? Ignorant exactement la nature de leurs produits de décomposition, leurs transformations peuvent nous échapper.

Le passage des protides du reste de l'œuf dans l'embryon se fait très probablement après une hydrolyse préalable (AGGAZZOTTI). L'embryon peut alors puiser électivement dans les réserves les produits d'hydrolyse dont il a besoin pour la constitution de ses tissus. Dans ce cas l'utilisation de ces produits devrait être incomplète et on pourrait s'attendre à constater une augmentation de l'azote non précipitable par

la chaleur et les acides, par rapport à l'azote protidique du résidu.

TOMITA (86) précipite les albumines du résidu par le tannin acétique à 20 p. 100 à l'ébullition, et dose l'azote qui passe en solution. Cet auteur exprime ses résultats pour 100 grammes frais. En les calculant par œuf, on constate qu'il y a une légère augmentation de cet azote jusqu'au quinzième jour.

WLADIMIROFF (94), dans des recherches récentes, a montré que le rapport $\frac{\text{azote total}}{\text{azote résiduel}}$ reste constant dans le reste de l'œuf pendant tout le développement.

Dans notre technique personnelle, qui comporte une extraction alcoolique initiale, nous avons constaté que — les savons mis à part — la partie de l'extrait alcoolique qui est insoluble dans la benzine était faible et diminuait progressivement, comme si la dégradation des protides se faisant dans le reste de l'œuf s'accompagnait d'une résorption totale, ne laissant derrière elle que peu ou pas d'azote résiduel.

Il ne s'agit donc pas d'un choix de l'embryon dans les produits d'hydrolyse du résidu ; ceux-ci passent très probablement par simple diffusion à travers les membranes aussitôt que l'hydrolyse a donné naissance à des molécules suffisamment petites. Les recherches récentes de WLADIMIROFF (93) sur la répartition des électrolytes et dans le reste de l'œuf et dans l'embryon sont en accord avec ces faits. De plus, les expériences sur la valeur biologique des différents protides au cours de la croissance ont déjà démontré la supériorité des protides de l'œuf sur beaucoup d'autres ⁽¹⁾.

3^o *Variations de composition des protides du résidu.* — Les données qu'on peut trouver sur les variations des constituants de la molécule des protides de l'œuf au cours de l'incubation sont peu abondantes. Elles ne permettent pas de

(1) La teneur en cystine des protides de l'embryon augmente fortement au cours de l'incubation. Mais cet enrichissement en cystine est compensé par la diminution de la teneur en glutathion de l'embryon. Nous avons vu, en effet, dans la première partie de ce travail, que le rapport $\frac{\text{soufre organique total}}{\text{azote total}}$ dans l'embryon reste constant durant tout le développement.

savoir en quoi les albumines de l'œuf au départ diffèrent, quant à leur pourcentage en divers acides aminés, des matières protéiques du reste de l'œuf. Les quelques résultats acquis à ce jour sont impossibles à confronter, certains auteurs exprimant leurs données par rapport à 100 grammes frais ou secs, d'autres en quantités absolues pour un œuf pris comme unité. Comme les œufs étudiés varient fréquemment de poids, leur sélection n'étant pas rigoureuse, il est impossible d'utiliser des moyennes.

Seuls, ABDERHALDEN et KEMPE (3) ont rapporté leurs résultats à l'albumine de l'œuf total et analysent à trois stades différents (premier, dixième et vingtième jour) 10 à 12 œufs. Ils dosent sur la substance extraite à l'alcool et à l'éther, la tyrosine et l'acide glutamique par cristallisation, et le glycocolle après éthérification et distillation. La technique, comme l'indiquent d'ailleurs les auteurs eux-mêmes, n'est pas rigoureuse. Leurs résultats n'ont donc que la valeur d'une indication.

Ils obtiennent les chiffres suivants exprimés pour 100 grammes d'albumines.

TABEAU III

	Tyrosine	Acide glutamique	Glycocolle	Azote total
Œuf fécondé frais ...	1,82	12,8	1,2	13,45
10 ^e jour	2,11	13,5	1,15	13,57
20 ^e jour	2,25	12,52	1,35	13,16

Etant donnée l'imperfection des techniques employées, les chiffres sont suffisamment homogènes pour conclure avec ces auteurs qu'il n'y a, en ce qui concerne les acides aminés envisagés, ni formation, ni destruction de ces composés. Ceci ne renseigne pas quant à la répartition de ces deux acides aminés entre le reste de l'œuf et l'embryon. La constance de l'azote total n'est pas très significative, car il s'agit de *l'ensemble* des protides de l'œuf et de l'embryon réunis.

AGGAZZOTTI (5) pense qu'il n'y a de variations ni dans l'azote total, ni dans l'azote aminé de 100 grammes frais ou secs de blanc ou de jaune ; au cours du développement, on

ne trouve que des variations de teneurs en ammoniac, et elles sont de sens inverse, dans le blanc et le jaune.

PLIMMER et ROSEDALE (71) cherchent à saisir une différence de composition entre les protides du blanc et du jaune de l'œuf frais. Les plus grandes différences portent sur l'histidine, et sur l'azote aminé total des monoaminés.

SENDJU (78, 79) étudie les mutations des divers acides aminés dans le blanc de l'œuf, le jaune et l'embryon durant la vie embryonnaire. L'emploi de la méthode colorimétrique de FÜRTH le conduit à admettre que le tryptophane diminue pendant l'incubation. Mais étant données les grandes variations de poids et l'hétérogénéité des œufs au départ, on s'étonne que l'auteur pense à établir un rapprochement entre cette diminution et la formation de l'hémoglobine et des pigments biliaires. SENDJU pense que de 132 milligrammes de tryptophane présents dans l'œuf frais, 30 disparaissent dans les trois premiers jours de l'incubation. Pendant ce même temps, le poids du blanc passerait de 30 à 20,5 grammes, et celui du jaune de 18 à 26 grammes. Admettons l'exactitude de la méthode de dosage colorimétrique de FÜRTH pour le tryptophane; il faudrait conclure, en s'appuyant sur les chiffres de l'auteur, que la teneur en tryptophane du jaune de l'œuf est essentiellement variable. On pourrait peut-être simplement trouver l'origine des apparentes variations constatées dans des écarts de teneurs en graisses. Dans les tableaux de SENDJU, on voit 16 grammes de jaune contenir 40 milligrammes de tryptophane dans un cas, et 8 grammes de jaune en contenir 30 milligrammes dans un autre œuf pris au même stade de l'incubation. On peut faire des constatations analogues pour la série des œufs qui ont servi à la détermination colorimétrique de la tyrosine (méthode de FURT FLEISCHMANN). Les chiffres indiqueraient une diminution de la tyrosine de 403 à 207 milligrammes du premier au dix-neuvième jour dans l'œuf total.

Les bases puriques, les acides diamminés du blanc et du jaune, de l'embryon ont été dosés par SENDJU sur le précipité phosphotungstique après hydrolyse de ces divers composants. L'histidine et la lysine présentent, pour un même stade, des variations de plus de 30 p. 100. On ne peut certainement

pas admettre l'exactitude de ces résultats et les écarts doivent être dus aux techniques employées. L'arginine semble rester à peu près constante, mais les chiffres sont très inférieurs aux nôtres. L'azote des composés non précipitables par l'acide phosphotungstique paraît invariable. SENDJU a dosé également la cystine ; il hydrolyse les tissus pendant vingt heures avec 50 à 100 centimètres cubes d'acide chlorhydrique concentré ; il décolore au noir animal, réduit la cystine à l'état de cystéine par la poudre de zinc et fait ensuite une titration iodométrique. D'après lui, la cystine passerait de 150 à 120 milligrammes dans l'œuf total durant l'incubation.

Dans un travail récent, PLIMMER et LOWNDEN (72) ont étudié les protides de l'œuf total obtenus par une extraction à l'alcool éther de l'œuf frais ; puis ceux de l'œuf du quinzième jour, et enfin du poulet à terme. Ils ont utilisé la technique de VAN SLYKE avec les modifications apportées par PLIMMER et ses collaborateurs. Ils ne voient pas de changement de l'azote amidé ni de l'azote humique, mais une augmentation de l'azote diaminé, due principalement à l'arginine. L'histidine et la lysine étant obtenues par le calcul, les auteurs n'attachent pas de valeur à leurs chiffres. L'azote monoaminé total diminue, et la cystine augmente aussi bien dans la fraction des diaminés que dans celle de monoaminés. Ils admettent également une diminution de la tyrosine.

RUSO (76), utilisant une technique de VAN SLYKE modifiée (1), trouve au cours du développement une diminution nette de l'arginine et de l'histidine dans l'œuf total, toutes les autres formes d'azote restant constantes.

En somme, on peut dire que la confrontation de toutes ces données n'est guère satisfaisante ; il est impossible d'aboutir en présence de ces constatations contradictoires à une notion nette de ce que peut être la mutation des acides aminés pendant l'incubation. On ne saurait affirmer ou nier d'éventuelles synthèses. La cause en doit être cherchée dans un mauvais choix des matériaux et dans l'imperfection des méthodes utilisées.

(1) Il précipite par HgCl_2 l'histidine ; le précipité entraîne la créatine et la choline. La guanidine libre est éliminée par l'alcool à 42°.

Nous avons tenté d'apporter à notre tour une contribution à ces importantes questions. Voit-on en étudiant comparativement les protides de l'œuf total au départ et les protides de l'embryon et du reste de l'œuf, à la fin de l'incubation, l'indice d'une synthèse de certains aminoacides au cours de l'organogenèse ? Tout parle-t-il au contraire en faveur du fait qu'après hydrolyse des protides de l'œuf, l'embryon absorberait sélectivement tels ou tels aminoacides disponibles, suivant une vitesse propre à chacun d'eux, afin de construire avec ces matériaux les albuminoïdes de ses tissus et cela sur un type spécifique propre à son espèce ?

Aux neuvième, quinzième, dix-huitième et vingt et unième jours, nous avons dosé l'azote total sui les protides totaux secs, dégraissés et sans cendres du reste de l'œuf. Pour cela, on a réuni chaque fois le contenu de neuf œufs au même stade d'incubation, après extirpation de l'embryon. On a trouvé les chiffres suivants :

TABLEAU IV

Age	Teneur en azote total de 100 grammes de la poudre sèche, dégraissée et sans cendres du résidu de l'œuf
9	15,00
15	14,70
18	14,50
21	15,55

Nous ne constatons aucune variation systématique pouvant nous renseigner sur les mutations possibles à l'intérieur de la molécule albuminoïde.

Quelles sont les variations de l'arginine ? Nous avons vu dans la première partie de ce travail que la teneur en arginine des protides constituant l'embryon restait à peu près constante pendant tout le développement. En est-il de même du résidu ? ou au contraire assiste-t-on à une variation de teneur du reste de l'œuf indiquant soit une accumulation de ce composé dans l'embryon, soit une destruction au cours de l'embryogenèse ?

Nous avons constaté les faits suivants :

La teneur des œufs *totaux* en arginine — y compris l'embryon — ne présente aucune variation du neuvième

au vingt et unième jour. Les chiffres oscillent de 3 p. 100 au maximum autour de la valeur moyenne. La teneur moyenne des protides en arginine pour un œuf du neuvième jour est de 385 milligrammes, celle d'un œuf du vingt et unième jour de 396 milligrammes ; c'est dire qu'elle est invariable. Le pourcentage d'arginine des protides du résidu reste de même approximativement constant (7 p. 100).

L'étude des composés sulfurés dans l'œuf total en voie de développement laisse-t-elle supposer une synthèse de cystine ? Nous ne distinguerons dans le groupe des corps sulfurés que le soufre minéral et le soufre organique total. Le chiffre de cette dernière forme, pour l'œuf total, est obtenu par l'addition de la cystine et du glutathion obtenus sur l'embryon et du soufre organique total du résidu. Toutes les formes de soufre organique total sont dosées sous forme de sulfate de benzidine, sur des tissus hydrolysés à l'autoclave.

TABLEAU V

Variations des différents composés sulfurés dans les différentes parties de l'œuf au cours du développement.

Age	EMBRYON			RÉSIDU		ŒUF TOTAL
	Soufre organique total mgr.	Soufre minéral mgr.	Soufre total mgr.	Soufre organique total mgr.	Soufre total mgr.	Soufre total mgr.
8	0,56	0,154	0,715	89,0	92,0	92,7
15	9,01	1,36	10,37	78,2	81,0	91,4
17	22,74	2,20	24,94	68,3	70,4	95,3
21	50,10	7,02	57,12	35,0	36,3	93,4

Nous avons réuni dans le tableau n° V les données principales concernant les variations des différents composés sulfurés dans les diverses parties de l'œuf au cours du développement. Le soufre organique total ⁽¹⁾ dans l'œuf total varie de

(1) Cette forme n'est pas indiquée spécialement dans le tableau, mais s'obtient par l'addition des chiffres des colonnes 1 et 4.

89,5 milligrammes au neuvième jour, à 85,1 milligrammes au vingt et unième jour. Le soufre minéral passe de 3,5 milligrammes au neuvième jour à 8,3 milligrammes au vingt et unième jour. L'azote total par œuf était, dans les deux stades, le même.

Signalons ici, nous aurons à y revenir dans la troisième partie de ce travail, que la valeur calorifique des protides de l'œuf varie au cours du développement :

1^o Valeur calorifique d'un gramme de protides de l'œuf total au neuvième jour : 4,91 calories.

2^o Valeur calorifique d'un gramme de protides de l'œuf moins l'embryon, au vingt et unième jour : 4,72 calories.

3^o Valeur calorifique des protides de l'embryon au vingt et unième jour par gramme : 5,28 calories.

Comment interpréter ces quelques constatations ? Commentons par dire que les interprétations que nous allons donner supposent une assez grande identité de composition entre tous les œufs de Leghorn examinés, une proportion relative, toujours la même, des constituants protidiques du jaune et du blanc. Cette déclaration préalable doit être faite une fois pour toutes.

La constance de la teneur en azote total des protides que nous avons trouvée dans l'embryon et les variations non systématiques observées dans le résidu, ne permettent aucune analyse. Ce fait ne doit pas surprendre. Nous avons fait remarquer au début de ce travail que la majeure partie des albumines, malgré des différences très grandes dans leur constitution, ont une teneur en azote de 15 à 16,5 p. 100. Ce fait n'a pas retenu suffisamment l'attention des auteurs. La teneur en azote des acides aminés variant de 8 à 32 p. 100, on pourrait s'attendre à des variations beaucoup plus étendues de la teneur en azote des albumines. La constance approximative *nécessite l'existence d'un rapport à peu près constant entre le nombre des groupements azotés et la grandeur de la molécule albuminoïde*. Nous reviendrons sur ce problème lors de la discussion de la dégradation de la molécule albuminoïde au cours du jeûne. Nous voulons toutefois ajouter que cette constance de la teneur en azote de protides notoirement différents retire tout sens aux études qui se basent sur cette

donnée pour affirmer ou nier une identité de composition.

Quant à l'arginine, nous pouvons affirmer qu'il n'y a, au cours du développement, ni destruction, ni synthèse de cet acide aminé. Le soufre organique total ne présente de même aucune variation appréciable ; des mutations à l'intérieur de ce groupe peuvent se faire : la variation du rapport $\frac{\text{cystine}}{\text{glutathion}}$ dans l'embryon le montre, mais la somme des différentes formes de composés sulfurés organiques reste à peu près constante. L'augmentation faible du soufre minéral dans l'œuf total peut provenir de la coquille.

Ces quelques données parlent en faveur d'une hydrolyse pure et simple des protides de l'œuf, suivie d'un regroupement pour la construction des protides des tissus de l'embryon.

III. — **Glucides.** — Nous avons vu les variations des lipides ainsi que celles des protides ; examinons maintenant ce que deviennent les glucides.

Nous possédons un grand nombre de données au sujet de ces composés.

IDZUMI (38) dose le sucre libre dans l'œuf total ⁽¹⁾ et constate une diminution régulière jusqu'au dixième jour, puis une augmentation, traduisant, à partir de cette date, une synthèse de sucre par l'embryon. Nous donnons ci-dessous les chiffres d'IDZUMI.

TABLEAU VI

Age en jours	Mgr. de sucre par œuf
3	0,122
4	0,105
6	0,076
8	0,065
9	0,047
10	0,041
11	0,045
12	0,066
14	0,084
16	0,096
20	0,129

(1) Probablement par la méthode de BANG.

L'apparition de la synthèse au onzième jour coïncide avec l'augmentation brusque du rapport $\frac{\text{glycogène}}{\text{glucose}}$ signalé par NEEDHAM (67). Si le sens du phénomène est bien celui mis en évidence par IDZUMI, on ne peut cependant pas se servir des chiffres de cet auteur, le matériel employé étant très peu homogène, ainsi qu'il ressort des poids du contenu des œufs. Dans une seconde série d'œufs, IDZUMI étudie les variations du sucre et dans l'embryon et dans le résidu de l'œuf ; ses chiffres, tout en montrant grossièrement le même phénomène de diminution et d'augmentation consécutive du sucre dans l'œuf total, sont d'un tout autre ordre de grandeur. Nous rapprochons dans le tableau ci-dessous les chiffres obtenus dans la première et la seconde séries :

TABLEAU VII

Age	SUCRE		Somme	Somme obtenue dans la première série
	Embryon mgr.	Résidu gr.		
6	2,4	0,118	0,120	80
10	5,8	0,086	0,091	41
12	7,1	0,118	0,125	66
16	88,5	0,088	0,176	96
18	108	0,086	0,194	
20	72	0,006	0,072	129

Les variations du sucre total (obtenu par la méthode de HAGEDORN-JENSEN après hydrolyse chlorhydrique) ainsi que du sucre contenu dans l'embryon et dans le résidu, sont rassemblées dans les deux mémoires si documentés de NEEDHAM, dont nous extrayons le tableau n° VIII.

TABLEAU VIII

Évolution des glucides dans les différentes parties de l'œuf au cours du développement (d'après NEEDHAM).

Age de l'embryon en jours	Glucose total du reste de l'œuf mgr.	Glucose total de l'embryon mgr.	Glucose total de l'œuf total (Somme) mgr.	Glucose libre de l'œuf total mgr.
0	335		335	200
1	296		296	194
2	258		258	186
3	223		223	172
4	193		193	156
5	169	0,33	169	134
6	152	0,54	153	108
7	141	0,84	142	85
8	144	1,31	145	64
9	191	2,10	193	46
10	229	3,17	232	33
11	229	4,69	234	52
12	214	7,57	222	67
13	193	11,23	204	78
14	175	17,84	192	91
15	164	25,80	190	102
16	139	36,80	176	110
17	128	52,10	170	119
18	112	68,50	170	128
19	88	87,40	175	133
20	70	107,20	177	138

En dehors de ces résultats, SATO, TOMITA et WLADIMIROFF ont dosé le sucre libre dans 100 grammes de blanc et de jaune au cours du développement. On peut, sans grande erreur, calculer la quantité de sucre par œuf d'après leurs données — pour les premiers stades — puisque les poids respectifs de ces deux substances varient très peu jusqu'au dixième jour par rapport à l'œuf au départ : c'est d'ailleurs dans ces premiers stades que les auteurs ont signalé les plus grandes différences de teneur en sucre du jaune et du blanc.

Nous donnons ci-dessous un tableau où se trouvent calculées approximativement les teneurs par œuf à partir des chiffres de ces auteurs :

TABLEAU IX

*Teneurs en sucre libre du reste de l'œuf en grammes
(calculées par œuf).*

Age	WLADIMIROFF			SATO			TOMITA		
	blanc	jaune (1)	Somme	blanc	jaune	Somme	blanc	jaune	Somme
0	0,131	0,034	0,165	0,150	0,037	0,187	0,150	0,041	0,191
3							0,137	0,034	0,171
4	0,072	0,034	0,116	0,072	0,040	0,112			
7	0,022	0,034	0,056	0,010	0,024	0,034			
10	0	0,018	0,018	traces	0,010	0,010			

On peut constater qu'ils sont assez concordants et indiquent, comme ceux de NEEDHAM, que jusqu'au dixième jour environ 180 milligrammes de glucose ont disparu du résidu. Comme ils ne se retrouvent pas dans l'embryon qui, à ce stade, ne contient que 3 milligrammes de sucre total, on peut affirmer qu'ils ont été oxydés. Au contraire, à la fin de l'incubation, on trouve dans l'embryon 120 milligrammes de glucose qui ne peuvent provenir du résidu dont la teneur reste constante à partir du dixième jour ; ils ont été formés à partir des graisses ou des protides.

TOMITA a pu mettre en évidence l'acide lactique, témoin du métabolisme des glucides pendant la première moitié du développement de l'œuf (2). A partir de ses chiffres exprimés pour 100 grammes, nous avons établi le tableau suivant donnant les résultats par œuf :

(1) La concentration du sucre dans le jaune d'œuf est de 0,06 gr. pour 100 grammes frais au quatorzième jour (WLADIMIROFF) et reste constante jusqu'à la fin de l'incubation ; on trouve la même concentration dans le poussin après l'éclosion.

(2) Le même auteur constate que du sucre ajouté au blanc est transformé partiellement en acide lactique au cours de l'incubation ; ce pouvoir de transformation n'existe pas dans le blanc au cours de l'autolyse.

TABLEAU X

ACIDE LACTIQUE EN MGR. PAR ŒUF			
Jours d'incubation	Blanc	Jaune	Somme
1	0,0073	0,0115	0,019
2	0,0113	0,013	0,026
5	0,025	0,023	0,048
7	0,011	0,016	0,027
10	0,008	0,003	0,011

En résumé : les glucides considérés comme corps préformés ne fournissent une partie importante de l'énergie mise en œuvre au cours du développement que dans les premiers stades de l'embryogenèse.

*
* *

En résumé l'étude des variations qualitatives et quantitatives des constituants du reste de l'œuf montre que, en dehors de 135 milligrammes de protides qui sont conduits au stade acide urique, et de 180 milligrammes de glucose oxydés, ce sont surtout des glycérides et des phosphatides qui *disparaissent* au cours de l'embryogenèse et qui constituent la source d'énergie chimique utilisée.

D'autre part, cette étude montre que l'embryon trouve préformés dans l'œuf tous ses constituants, à l'exception des nucléines, de l'hémoglobine et qu'il n'a à effectuer aucune synthèse, mais seulement des regroupements moléculaires, notamment pour les protides qui nous intéressent ici tout spécialement.

TROISIEME PARTIE

Énergétique du développement de l'œuf de Poule

POTENTIELS CHIMIQUES AUXQUELS SONT EMPRUNTÉS
LES DIVERS TYPES D'ÉNERGIE
MIS EN JEU DANS LE DÉVELOPPEMENT

a) *La combustion des protides fournit-elle une part importante de l'énergie nécessaire au développement du Poulet ?* — Nous avons vu que l'acide urique étant le produit final de toute combustion des protides chez les oiseaux, il peut servir à évaluer la part prise par ces composés dans les échanges totaux de l'œuf. C'est ce calcul qu'a fait FRIDERICIA, en se servant des chiffres de production calorifique obtenus par BOHR et HASSELBACH. (Chaleur de combustion de l'acide urique par gramme d'azote = 8,24 calories ; de l'urée par gramme d'azote = 5,44 ; chez les oiseaux la chaleur de combustion des protides est de $8,24 - 5,44 = 2,8$ calories par gramme d'azote de moins que chez les mammifères, c'est-à-dire de $25,7 - 2,8 = 22,9$ calories par gramme d'azote.)

Nous donnons ci-dessous un tableau tiré du mémoire de FRIDERICIA, en ayant toutefois tiré certaines valeurs des courbes que nous avons construites à l'aide des chiffres de cet auteur.

TABLEAU I

Jours d'incubation	Acide urique excrété	Petites calories dues au métabolisme des protides	Calories totales Bohr et Hasselbalch	Pourcentage des échanges totaux couvert par les protides
13-14	4,5	34,8	0,924	3,77
14-15	6,9	53,4	1,119	4,76
15-16	9,5	69,6	1,341	5,19
16-17	13,7	106	1,754	6,05
17-18	8,2	63,5	2,076	3,07
18-19	6,9	53,4	2,125	2,5
19-20	6,9	53,4		

Le pourcentage des échanges totaux couvert par les protides augmente jusqu'au seizième jour où il présente un maximum.

A quelles fins correspond cette dégradation de protides observée durant l'embryogénèse ? — Il s'agit simplement de couvrir l'irréductible besoin d'azote que l'on trouve chez tous les êtres vivants et qui résulte de ce que l'on appelle habituellement « l'usure des tissus ». Ayant à sa disposition un excès de graisses, l'embryon n'oxyde des protides que pour couvrir « l'abnutzungsquote » (RUBNER).

Le besoin minimal d'azote ne semble pas avoir une valeur très fixe chez l'embryon ; très probablement, la totalité de l'azote métabolisé par lui correspond à ce besoin. Comme l'a déjà noté FRIDERICIA, la quantité de protides métabolisée par l'embryon entre le quatorzième et le dix-septième jour est du même ordre de grandeur que chez une Poule adulte nourrie avec des graines ; chez le Poussin en inanition elle couvre 6 p. 100 de l'énergie chimique totale métabolisée. Les valeurs qui figurent dans le tableau de FRIDERICIA sont également voisines de celles trouvées par d'autres auteurs pour lesquels le besoin minimal d'azote chez l'adulte représente 4 p. 100 des échanges totaux (RUBNER et HEUBNER, LOVEN, TERROINE et MATTER, EDELSTEIN et LANGSTEIN, etc.).

En dépit du fait que l'embryon oxyde surtout des lipides, on voit que son besoin minimal d'azote n'est pas plus élevé qu'il ne l'est chez l'homme quand on cherche à le mesurer par la méthode de RUBNER et THOMAS où l'on fait prédominer les glucides dans le régime. Les expériences de ZELLER avaient déjà montré que 90 p. 100 des glucides pouvaient être rem-

placés par des lipides sans faire changer l'excrétion minimale d'azote chez l'homme.

b) *Glucides et lipides.* — Nous avons vu que durant l'embryogenèse et jusqu'au dixième jour, il n'y a disparition que de 180 milligrammes de glucose dans l'œuf de Poule. *Remarquons dès maintenant que l'oxydation de ces 180 milligrammes suffit à couvrir la presque totalité des dépenses énergétiques durant cette période.* Il résulte de même des chiffres que nous avons donnés dans la deuxième partie de ce travail, qu'il y a combustion de 1,380 grammes d'acides gras au cours de l'incubation. Ce sont donc les graisses qui fournissent la majeure partie de l'énergie dépensée pendant le développement embryonnaire.

Cette utilisation presque exclusive des lipides fait-elle de l'œuf de Poule une exception parmi les œufs des autres animaux ?

NEEDHAM (67) a réuni dans un tableau d'ensemble reproduit ci-dessous la majeure partie des données dont on dispose actuellement sur l'utilisation des différents constituants de l'œuf au cours du développement embryonnaire d'espèces variées :

TABEAU II

ESPÈCES	AUTEURS	SUBSTANCES OXYDÉES EN % DES COMBUSTIONS TOTALES		
		Glucides	Protides	Lipides
Poussin	NEEDHAM, TANGL, LIEBERMANN, MURRAY, FRIDERICIA	3	5	92
Grenouille . . .	BONNET et BARTHÉLEMY, NEEDHAM . . .	6,8	70,7	22,4
Truite	GARTNER, TANGL et FARKAS		63,0	37,0
Roussette . . .	FORD, SEMPOLOFFSKI . . .		33,0	66,0
Homard	PAYEN		28	72
Buccin	SEMPLOFFSKI		84,5	15,5
Couleuvre . . .	SOMMER et WETZEL, BOHR	probablement glucides Q. R. = 0,90		
Saumon	GREENE, MIESCHER . . .		60,0	30,0
Ver à soie . . .	TICHOMIROFF, KELLNER		10,0	64,0
Plie	DAKIN et DAKIN, SEMPELOFFSKI		100,0	
Oursin	MEYERHOF	0 exclusivement des graisses ?		

On voit que la part d'énergie fournie par les glucides est toujours très faible pour tous les œufs étudiés. Mais il existe entre les œufs des diverses espèces une différence capitale : c'est la part prise par les protides dans les combustions totales. L'œuf de Poule occupe une place singulière : c'est le seul, parmi ceux étudiés, pour lequel les protides entrent dans les échanges totaux de l'embryon pour un même pourcentage que chez l'adulte. Nous l'avons souligné plus haut. Dans les autres œufs la quantité de protides brûlée est très supérieure à celle qui correspond au besoin minimal d'azote. Comment peut-on interpréter ce fait ? *A priori* on peut penser que la part prise par les protides de l'œuf, dans les dépenses énergétiques au cours du développement, est d'autant plus grande que la composition des protides de l'embryon est plus éloignée de la composition moyenne des protides de l'œuf. Contrairement à ce qui a lieu pour l'embryon de poule, l'hydrolyse de la molécule protéidique de certains œufs serait suivie d'un regroupement spécifique des acides aminés ; ce regroupement laisserait libre pour des fins purement énergétiques une quantité importante d'acides aminés, susceptible de remplacer en partie ou en totalité les graisses pour la couverture des dépenses d'entretien de l'embryon. Cette hypothèse de travail nous a semblé assez intéressante pour être présentée ici.

L'étude du développement de l'œuf de Poule peut-elle éclairer la question de l'aliment préférentiel ?

Nous avons vu qu'à partir du dixième jour la totalité de l'énergie du développement — l'Abnutzungquote mis a part — est empruntée aux lipides.

On peut se demander si leur dégradation se fait directement ou après transformation préalable en glucides. Il est actuellement hors de doute que, le besoin minimum d'azote aminé spécifique étant couvert, les cellules peuvent utiliser indifféremment les lipides ou les glucides, qu'il s'agisse de la croissance, du jeûne ou de l'état normal. La seule question qui reste ouverte à l'heure actuelle et sur laquelle l'accord entre les physiologistes soit loin d'être fait, c'est la nécessité d'une

transformation des graisses en sucres avant leur oxydation.

D'une part, un grand nombre de physiologistes (MAGNUS-LEVY, FURTH, LÆWY, etc...) cherchent vainement une preuve concluante et définitive de la possibilité d'une transformation des graisses en sucres dans l'organisme animal ; d'autre part, bon nombre d'auteurs acceptent implicitement cette transformation, en admettant le sucre comme aliment préférentiel et en interprétant l'action dynamique spécifique des lipides comme la traduction d'un mauvais rendement de la transformation lipides→glucides. Dans le cas de l'œuf de Poule une telle transformation préalable est rendue possible par la présence d'une petite quantité de sucre au départ (AUBEL).

Pour élucider cette question, l'étude du métabolisme intermédiaire n'a jusqu'ici apporté aucun argument concluant. En effet, — et LEMOIGNE a récemment insisté sur ce point — les produits de dégradation des lipides et des glucides sont les mêmes. KLEIN et PIRSCHLE ont caractérisé l'aldéhyde acétique dans les graines en germination que leurs réserves soient constituées par des glucides ou des lipides.

L'on avait admis jusqu'ici que les sucres sont l'unique substance brûlée par la cellule musculaire au cours de son travail. Les données chimiques et énergétiques de MEYERHOFF et HILL, les calculs sur le rendement du travail pour différents régimes de KROGH et LINDHARD, etc... parlaient en faveur d'une telle manière de voir. Mais, dans leurs travaux récents sur la nature des potentiels chimiques utilisés par le muscle travaillant *in vitro* ou *in vivo*, et sur la valeur des quotients respiratoires observés, HUNWICH et CASTLE ⁽¹⁾ d'une part, RAPPORT et RALLI ⁽²⁾ de l'autre, admettent que les graisses sont brûlées dans le travail musculaire. D'autre part les travaux de PARNAS sur la production de NH_3 dans le muscle, montrent que les combustions de cet organe au travail sont loin d'être aussi simples que la théorie classique le laisse supposer.

En somme, dans l'état actuel de nos connaissances, seule l'étude de l'action dynamique spécifique a fourni un argument

⁽¹⁾ Amer. Jnal of physiol., Vol. LXXXIII, p. 92 (1927).

⁽²⁾ Amer. Jnal of physiol., Vol. LXXXIII, p. 450 (1928).

en faveur de l'aliment préférentiel. Dans le cas de l'embryon, il faudrait théoriquement pouvoir comparer la quantité de chaleur dégagée au cours du développement dans une incubation normale, avec celle qui se dégagerait dans une incubation où l'aliment brûlé serait du sucre au lieu des graisses. Des expériences du type de celles de TOMITA qui injecte du glucose dans les œufs et le voit disparaître dans l'incubation pourront peut-être un jour nous donner la réponse cherchée — l'embryon étant un objet de choix puisque l'on peut par une analyse connaître à chaque instant les quantités d'aliments utilisées et leur nature.

A QUELLES FINS EST UTILISÉE L'ÉNERGIE CHIMIQUE QUI DISPARAIT DURANT L'EMBRYOGENÈSE

La consommation à peu près exclusive de graisses pendant l'incubation est connue depuis longtemps ; d'utiles confrontations ont été, par suite, possibles dès que la quantité de calories produites au cours du développement du poulet a été mesurée avec précision. Avant d'examiner la signification des résultats acquis, voyons à quelles fins est employée l'énergie provenant de la combustion des réserves de l'œuf.

1^o Elle peut être utilisée en vue de *synthèses*. L'embryogenèse peut comporter l'édification de constituants protoplasmiques dont le potentiel chimique sera plus grand que celui des constituants de l'œuf. L'élévation de potentiel ne pourra se faire qu'aux dépens de réactions couplées dont le rendement n'est jamais de 100 p. 100 mais qui comportent une dégradation d'énergie dont la chaleur recueillie au calorimètre donnera la mesure. Le rapport entre l'énergie chimique dépensée pour les synthèses et celle que l'on retrouve dans la matière vivante constitue le rendement énergétique de ces synthèses.

2^o Elle est employée par l'embryon comme *énergie d'entretien*. Cette consommation d'énergie, manifestation essentielle de la vie, n'a pas besoin d'être caractérisée ici autrement. L'énergie d'entretien se retrouve sous forme de chaleur dans le calorimètre ; elle augmente en valeur absolue avec le

poids de l'embryon lui-même et diminue *relativement* si on la rapporte au poids corporel.

3° L'énergie peut encore être utilisée pour la réalisation des dispositions structurales (*énergie de structure*). On peut admettre *a priori* que les différents processus qui caractérisent le développement : divisions cellulaires, différenciation morphologique, se font avec dépense d'énergie. On a toujours calculé l'énergie de structure par différence entre l'énergie totale mise en jeu, et la somme de l'énergie de synthèse et de l'énergie d'entretien. Comme elle est peu de chose en valeur absolue et qu'on ne la mesure pas directement, on comprend que son existence soit encore discutée et reste discutable.

Détermination des énergies de synthèse, d'entretien et de structure (TERROINE et WURMSER) (82). — 1° On doit déterminer d'abord la variation d'énergie de l'aliment $U_1 - U_2$, c'est-à-dire ici la quantité d'énergie disponible dans l'œuf au départ, diminuée de l'énergie du résidu.

2° On peut mesurer avec précision l'énergie représentée par les tissus de l'embryon formé soit U' .

3° La quantité d'acide carbonique formé au cours du développement correspond à l'énergie U'' .

4° L'énergie d'entretien sera représentée par U_e .

Le bilan énergétique total sera :

$$U_1 - U_2 = U' + U'' + \text{travail}$$

et le rendement énergétique devient :

$$\text{Rendement} = \frac{U'}{(U_1 - U_2) - U_e}$$

Parmi les valeurs nécessaires aux calculs, quelles sont celles que nous pouvons mesurer exactement ?

Pour que $U_1 - U_2$ soit déterminé avec précision, il faut que les divers œufs de Leghorn soient d'une composition rigoureusement identique au départ. Si ce n'est pas le cas, ce terme n'aura qu'une « valeur statistique » approchée, entachée d'une erreur qui correspondra à la différence moyenne de valeur calorifique entre deux œufs choisis aussi identiques que possible.

La valeur calorifique U' de l'embryon peut être déterminée avec précision, mais il en va différemment pour U'' . On peut bien mesurer l'acide carbonique dégagé au cours du développement, mais quel coefficient thermique employer pour la transformation en calories ? Nous verrons plus loin les difficultés que soulève ce problème.

L'énergie d'entretien U_e ne peut être calculée ; l'énergie totale mesurée étant une somme : énergie d'entretien plus énergie de synthèse.

On voit quelles sont les difficultés rencontrées *a priori* pour établir le rendement énergétique du développement de l'œuf de poule.

Les données numériques sur l'énergétique du développement de l'œuf de poule. — Seul, un examen superficiel des chiffres recueillis à ce jour peut faire considérer le problème posé comme résolu d'une façon satisfaisante.

On connaît les deux mémoires classiques de BOHR et HASSELBALCH (13-15), où ces auteurs ont étudié la question. Dans leur premier travail, ils ont déterminé simultanément la quantité de chaleur et d'acide carbonique produits, ainsi que l'oxygène consommé. Dans ces premières recherches, ils n'étudièrent pas les mêmes œufs durant tout leur développement, mais opérèrent sur des œufs différents. Leurs données sont donc des moyennes. Ils trouvèrent une production totale d'acide carbonique de 5 gr. 939 contenant 1 gr. 620 de carbone, ce qui correspond à une combustion de 2 gr. 26 de graisse si on admet que les glycérides consommés contiennent 76,6 p. 100 de carbone (la chaleur de combustion des graisses est de 9,423 calories grammes). Dans un second mémoire, BOHR et HASSELBALCH déterminèrent sur des œufs choisis aussi identiques que possible, et durant une longue période, la production calorifique *pour un même œuf*. L'acide carbonique dégagé, l'oxygène consommé, étaient mesurés simultanément. Les auteurs trouvèrent du 8^e au 19^e jour une production d'acide carbonique de 3 gr. 600 de CO^2 correspondant à la combustion de 1 gr. 250 de graisses. En calculant pour le développement total, on trouve au maximum 5 gr. 200 d'acide carbonique qui correspondent à 1 gr. 850 de graisses brûlées. Nous sommes loin des 2 gr. 26 annoncés

dans le premier travail comme fournissant l'énergie du développement.

Si on considère la totalité de l'acide carbonique produit pendant tout le développement, et qu'on lui applique le coefficient correspondant à une combustion de graisses, *on retrouve à 1 p. 100 près toute la chaleur dégagée dans le calorimètre* et mesurée par les auteurs. Le choix du coefficient thermique employé a été motivé par la valeur du quotient respiratoire, qui est égal à 0,71 quand on considère la totalité de l'oxygène consommé et de l'acide carbonique produit durant tout le développement. Mais si ces calculs se justifient quand on considère la totalité du développement, il n'en est pas de même quand on examine des périodes plus courtes, comme l'ont vu BOHR et HASSELBALCH eux-mêmes. Le quotient respiratoire varie d'un jour à l'autre. Les différences entre la chaleur calculée d'après l'acide carbonique et celle recueillie au calorimètre sont souvent très importantes en dépit du fait que les mesures durent une journée entière ; elles dépassent 50 p. 100 pour le 9^e et le 10^e jours dans deux séries expérimentales différentes.

En moyenne, 14 p. 100 de la chaleur calculée ne se retrouvait pas au calorimètre du 5^e au 12^e jour ; au contraire, on trouve 4,4 p. 100 de plus que ne le voudrait le calcul entre le 13^e et le 19^e jour. Quel est le sens de ces variations ? Plus de chaleur observée que n'en prévoit le calcul est difficile à admettre, car le coefficient thermique de l'acide carbonique pour les graisses est le plus élevé de ceux que l'on puisse raisonnablement appliquer.

En calculant, d'après les données obtenues sur un œuf, le coefficient thermique de l'oxygène et celui de l'acide carbonique, *non pas pour la durée totale du développement, mais pour chaque jour de l'incubation*, on constate des variations assez importantes, comme le montre le tableau n° III.

TABLEAU III

Variations du coefficient thermique par centimètre cube d'oxygène ou d'acide carbonique au cours du développement embryonnaire de la Poule, d'après les chiffres de BOHR et HASSELBALCH.

Age	Q. R.	Coefficient thermique par centimètre cube d'après les calories recueillies au calorimètre	
		O ²	CO ²
8			4,23
9	0,733	2,10	2,88
10	0,747	4,02	5,38
11			7,16
12	0,751	4,25	5,65
13	0,646	4,76	7,38
14	0,705	4,38	6,23
15	0,681		5,89
16	0,735		6,66
17	0,708	5,48	7,73
18	0,718	5,05	7,05
19	0,693	4,56	6,60

Les valeurs normales du coefficient thermique par centimètre cube d'oxygène ou d'acide carbonique sont (pour 0° et 760 $\frac{mm}{m}$) :

	Oxygène	Acide carbonique
Protides.	4,54	5,44
Lipides.	4,70	6,58
Glucides.	5,0	5,0

Comment expliquer les faits constatés ? Les mesures ayant duré vingt-quatre heures, il est difficile d'invoquer des erreurs expérimentales pour expliquer les coefficients thermiques *très bas* observés, surtout dans les premiers stades du développement. Ces coefficients thermiques ne peuvent s'expliquer que par des réactions de synthèse endothermiques, fait d'autant plus vraisemblable que du glucose disparaît dans cette période sans que le quotient respiratoire en soit visiblement influencé (AGGAZZOTTI).

Pour éclairer la discussion, il est intéressant de rapprocher les résultats obtenus par BOHR et HASSELBALCH sur l'œuf de poule de ceux qu'a obtenu MEYERHOF (50) sur un autre matériel d'étude.

MEYERHOF a trouvé, pour l'œuf d'oursin en voie de dévelop-

pement, un coefficient thermique *par gramme d'oxygène* compris entre 2,65 et 2,85 ; il est théoriquement pour les lipides de 3,29, pour les glucides de 3,56, pour les protides de 3,19. Ces chiffres restent constants pendant tout le développement malgré d'importantes variations de vitesse de la différenciation morphologique dans l'unité de temps.

Par l'action du phenylurethane à faibles concentrations, on arrête la division cellulaire sans influencer la respiration, et le coefficient thermique de l'oxygène reste cependant le même (2,25 à 2,75). Au contraire, en présence d'ammoniaque à une concentration qui arrête la division (WARBURG) et augmente les échanges de 10 à 50 p. 100, on observe un coefficient thermique qui atteint au moins 2,95. Or, les œufs d'oursin ne contiennent pas de substances réductrices ; et MEYERHOF n'a pu déceler par le réactif de NESSLER de déchets azotés pouvant provenir de la dégradation des protides (¹). Par ailleurs, les œufs d'oursin contiennent une quantité suffisante de graisses pour suffire aux dépenses énergétiques de l'embryon pendant six jours. MEYERHOF propose trois hypothèses pour expliquer les faits qu'il a constatés :

1° Une partie de l'énergie libérée serait couplée avec des processus endothermiques pouvant se traduire par une augmentation de la valeur calorifique de la matière vivante ;

2° L'oxygène est utilisé en partie pour des processus qui ne dégagent pas de chaleur ;

3° Une partie de la production calorique serait due à l'oxydation des graisses, le reste à des processus de nature inconnue.

Dans le cas de l'oursin, on ne retrouve dans le calorimètre que les trois quarts de la chaleur calculée à partir de l'acide carbonique produit.

Des trois hypothèses de MEYERHOF, la première nous

(¹) Nous avons eu connaissance, au moment de l'impression de ce travail, d'un mémoire de EPHRUSI et RAPKINE sur le développement de l'œuf d'oursin. Il résulte de ces travaux que, contrairement à ce qu'a vu MEYERHOF, les protides fournissent une part importante de l'énergie utilisée au cours de l'évolution. De plus, les auteurs cités ci-dessus ont trouvé dans l'œuf au départ 5,43 p. 100 secs de glucides (dont 96 p. 100 de glycogène) ; il en reste 3,4 p. 100 secs après 40 heures à l'état de substances réductrices.

semble la plus vraisemblable et la plus intéressante à faire dans le cas de l'œuf de poule spécialement étudié ici.

Aux recherches de BOHR et HASSELBALCH ont fait suite les travaux de TANGL et MITUCH (80). Sur les œufs de deux poules recevant la même nourriture, ils ont dosé les acides gras par la méthode de LIEBERMANN au départ et à la fin de l'incubation. Ils constatent une disparition de 1 gr. 8 à 2 gr. 23 de graisse par œuf, soit en moyenne 2 gr. 11. De nombreux physiologistes ont relevé, après TANGL et MITUCH, la parfaite concordance que ce chiffre semble présenter avec les résultats calorimétriques de BOHR et HASSELBALCH. *En fait, cette concordance n'est qu'une apparence.* Si TANGL et MITUCH avaient comparé leurs chiffres de graisses non pas à ceux du premier, mais du second mémoire de BOHR et HASSELBALCH (pourtant bien antérieur à leurs travaux), ils n'auraient pas aussi péremptoirement conclu que les graisses disparues dans le développement de l'œuf *correspondaient exactement* à l'acide carbonique dégagé. Si la concordance relevée était exacte, les auteurs auraient dû conclure (en admettant la validité du coefficient thermique choisi pour CO_2) qu'il n'y avait eu ni énergie de structure, ni énergie de synthèse mises en œuvre durant le développement, *mais que la consommation d'énergie correspondait uniquement à des dépenses d'entretien.*

En réalité, quand on examine les chiffres de TANGL et MITUCH, on s'aperçoit qu'en déterminant la chaleur de combustion du contenu total des œufs au premier et au dernier jour de l'incubation, ils trouvent pour la substance qui a disparu une chaleur de combustion de 9,61 calories à 9,78 calories par gramme, alors que les graisses ne peuvent donner plus de 9,42 calories. Comment expliquer ce fait ?

La calcul fait par TANGL et MITUCH est le suivant :

$$\frac{\text{Valeur calor. de l'œuf au départ, moins valeur calor. de l'œuf au 21^e jour}}{\text{Poids en grammes de la substance disparue}} = 9,78 \text{ calories.}$$

Cette valeur de 9,78 calories étant trop grande, c'est que le numérateur est trop grand ou le dénominateur trop petit. On peut alors admettre qu'une partie des substances brûlées a servi à des processus endothermiques tels, que l'énergie

emmagasinée ne se retrouve pas à la bombe à la fin du développement. *Ce serait de l'énergie de structure.*

Il est encore possible qu'en dépit du soin apporté à leur sélection, la valeur calorifique des œufs pris comme témoins au départ soit un peu basse ; le poids de la substance disparue se trouverait trop faible pour cette raison.

Dans des recherches plus récentes, MURRAY (55-58) a obtenu lui aussi une assez bonne concordance entre la quantité de substance brûlée et la production d'acide carbonique, si on admet que la presque totalité des substances brûlées est constituée par des graisses. *Remarquons ici que cet auteur comprend sous le nom de graisses un extrait éthéro-alcoolique non purifié.* BOHR et HASSELBALCH trouvaient, on l'a vu, 5 gr. 939 d'acide carbonique produits durant tout le développement, quantité équivalant à une oxydation de 2 gr. 20 de graisse. MURRAY trouve 2260 centimètres cubes d'acide carbonique, soit 4 gr. 44 qui correspondent, si on garde les mêmes constantes que plus haut, à 1 gr. 580 de graisses pour la même période. En fait, le dosage direct donne à MURRAY une disparition de 1 gr. 577. *Mais les propres chiffres de l'auteur montrent que cette concordance est purement occasionnelle.* Déterminant la chaleur de combustion des tissus de l'embryon dans un mémoire ultérieur ⁽¹⁾, puis comparant les valeurs obtenues à celles que lui donne le calcul, il trouve des résultats fort discordants. D'après nous, ce désaccord ne s'explique pas par un pouvoir calorifique moindre des protides de l'embryon par rapport à ceux de l'adulte ; nous l'attribuons plutôt à une identification et à un dosage incorrects et des graisses et des protides.

*
* * *

On le voit, tous les auteurs cités par nous se sont toujours particulièrement souciés d'établir une concordance entre la

(1) Le poids de l'extrait éthéroalcoolique est multiplié par 9,3 ; la valeur calorifique des protides est obtenue en multipliant l'azote total par 6,25, puis par 4,7 calories.

quantité totale de graisses disparues et la quantité de chaleur recueillie au calorimètre.

Mais pourquoi ne jamais prendre en considération que la totalité des phénomènes qui se sont passés entre le premier et le dernier jour de l'incubation, sans se soucier de ce qui a pu se produire à certains stades ? N'oublions pas que le développement est essentiellement discontinu : certaines différenciations sont soudaines, certains constituants apparaissent brusquement à tel ou tel stade (glycogène, créatine, etc.). Ces phénomènes singuliers ne pourraient-ils se traduire par des variations, à certains jours de l'incubation, soit dans la consommation totale d'énergie, soit dans les rapports quantitatifs réciproques des différentes formes d'énergie ?

Si on accepte l'exactitude des recherches de BOHR et HASSELBALCH et, par suite, la valeur des coefficients thermiques obtenus à partir de leurs données, il devient impossible d'admettre que le quotient respiratoire constamment voisin de 0,7 qu'ils ont trouvé, corresponde bien à une exclusive combustion de graisses pour les stades où les coefficients thermiques de O^2 et de CO^2 s'éloignent trop des valeurs exigées par une telle combustion. Pour tous ces stades, il faut supposer que le quotient respiratoire observé n'a pas une signification univoque ; dans les dix premiers jours de l'incubation, par exemple, alors que du glucose disparaît dans l'œuf, un quotient respiratoire de 0,7 contemporain d'une valeur très basse pour le coefficient thermique de l'oxygène doit signifier que des synthèses endothermiques s'accomplissent.

A notre avis, les concordances trouvées pour la totalité du développement entre les valeurs fournies par les calorimétries directe et indirecte sont dues à d'heureuses compensations d'erreurs. Jusqu'au treizième jour, on trouve une différence de production de chaleur de 14 p. 100 de moins pour la calorimétrie indirecte, qui se trouve suivie d'un excès de 4,5 p. 100 pendant le reste du développement. Comme les échanges augmentent en valeur absolue durant cette seconde période, on comprend qu'une compensation fortuite soit possible.

*
* *

Cherchons maintenant à voir de quel secours peuvent nous être nos propres résultats biochimiques, pour comprendre les points obscurs de l'énergétique du développement.

On l'a vu, nos dosages montrent, en plein accord avec les résultats de nos devanciers, une disparition élective des acides gras de l'œuf durant l'embryogenèse. Ces composés sont-ils empruntés pour une part plus grande aux glycérides qu'aux phospholipides, c'est ce que nous ne pouvons affirmer. Les transformations que peut subir la glycérine ou l'acide glycérophosphorique dans l'œuf ne sont pas connues. Nos connaissances embryochimiques actuelles nous laissent tout ignorer des voies de dégradation de ces produits. Mais ce que nous pouvons affirmer, c'est que du point de vue quantitatif il ne se fait certainement pas dans l'œuf de synthèses importantes (1). Il n'y a qu'une hydrololyse des lipides, une synthèse négligeable de glucides et nos résultats personnels sont en faveur de l'existence d'un simple remaniement des acides aminés présents au départ, sans néoformation aucune au cours de l'édification des tissus de l'embryon.

Nous avons vu dans la première partie de notre travail que 150 milligrammes de protides ont été oxydés jusqu'au stade acide urique durant le développement. Ceci correspond à une diminution du poids des constituants azotés de 50 milligrammes ; autrement dit, la somme des protides totaux de l'œuf entier (secs, dégraissés et sans cendres) et des extraits, doit peser presque identiquement le même poids au 1^{er} ou au 22^e jour. Les cendres doivent être soigneusement éliminées, car elles augmentent régulièrement durant l'embryogenèse. Voici les chiffres que nous avons trouvés :

(1) C'est un cas analogue à celui des bactéries nitrifiantes étudié par MEYERHOF (52).

TABLEAU IV

	Oeuf du neuvième jour	Oeuf du vingt et unième jour
Embryon poids sec, dégraissé sans cendres.....	0,046	3,220
Reste de l'oeuf, poids sec, dégraissé sans cendres.....	5,800	2,360
Extractifs de l'embryon.....	0,012	0,350
Extractifs du résidu.....	0,120	—
	5,978	5,930

Nos chiffres montrent donc une différence de 46 milligrammes de protides entre les deux stades envisagés. La seule impureté qui peut rester dans les protides pesés par nous après enlèvement des graisses et des cendres, c'est du glycogène, qu'on extrait difficilement par l'eau chaude. Mais NEEDHAM a montré qu'il y en avait si peu dans l'oeuf qu'une erreur de ce chef est parfaitement négligeable. Nous avons déterminé la chaleur de combustion des protides de l'embryon.

Voici nos résultats :

1 gramme de protides de l'oeuf total au neuvième jour a une chaleur de combustion de 4,91 calories grammes, soit au total pour 5 gr. 846.	} 28.700 calories
1 gramme de protides de l'oeuf (moins l'embryon) au vingt et unième jour donne une chaleur de combustion de 4,72 calories, soit au total pour 2 gr. 360.	
1 gramme de protides de l'embryon total à l'éclosion donne une chaleur de combustion de 5,28 calories, soit au total pour 3 gr. 220.	} 17.000 calories
Total.....	28.150 calories

On voit qu'à partir de protides ayant une chaleur de combustion de 28.700 calories, on aboutit à des protides ayant une chaleur de combustion de 28.150 calories (en négligeant dans le calcul ce que peuvent représenter 0 gr. 218 d'extractifs azotés ⁽¹⁾). Il y a donc une différence de 550 calories. Si l'on pense que les protides métabolisés jusqu'au stade

(¹) Rappelons ici que TANGL a mis en évidence un transfert de 0 gr. 260 de substances organiques de la coquille à l'oeuf durant le développement.

acide urique ont libéré 500 calories ⁽¹⁾, on peut conclure que *l'édification des protides de l'embryon de poulet s'effectue sans dépense mesurable d'énergie de synthèse.*

L'énergie mise en jeu pour la synthèse de l'acide nucléique, de l'hémoglobine, etc., est quantitativement peu de chose et ne peut être atteinte par nos procédés indirects de mesure de *l'énergie de synthèse*, appliqués au développement total. Il en est à plus forte raison de même pour *l'énergie de structure*. Si leur somme est du même ordre de grandeur que les différences moyennes de valeurs calorifiques des œufs au départ, on comprend que leur détermination échappe à l'expérimentateur.

CONCLUSIONS

Nous appuyant sur les données déjà acquises et sur nos résultats personnels, nous avons discuté, dans les pages précédentes, les problèmes de physiologie générale que pose le développement embryonnaire du poulet.

Pour ce qui est des variations quantitatives et qualitatives des constituants de l'embryon, nous avons montré que la teneur en eau des tissus diminue surtout à partir du huitième jour de l'incubation, époque à laquelle le mésonéphros commence à fonctionner normalement. L'hydratation des tissus varie brusquement au seizième jour, quand l'involution du mésonéphros se produit et que les reins commencent probablement à fonctionner.

Par rapport à 100 grammes de tissu frais, les phospholipides augmentent progressivement durant l'embryogenèse, puis restent constants à partir du seizième jour, la teneur en eau de l'embryon continuant cependant à diminuer. Par rapport au poids sec, les phospholipides augmentent du sixième au onzième jour, puis diminuent constamment jusqu'à l'éclosion.

(1) L'erreur due à la chaleur de combustion du glycogène contenu dans l'embryon du vingt et unième jour est assez exactement compensée par la différence du poids qui existe entre l'œuf du neuvième et du vingt et unième jour d'incubation.

Dans le résidu de l'œuf, les phospholipides diminuent plus qu'ils n'augmentent dans l'embryon. 50 p. 100 des phospholipides présents dans l'œuf au départ ne se retrouvent plus sous cette forme à la fin de l'incubation : ils ont donc été utilisés pour la formation d'autres composés phosphorés.

La teneur en cholestérine d'un œuf, au neuvième jour, est identique à celle d'un œuf au vingt et unième jour d'incubation. Il n'y a ni destruction, ni synthèse de cholestérine dans l'œuf au cours du développement ; 50 p. 100 de la cholestérine présente dans l'œuf au début de l'incubation ont, au vingt et unième jour, passé dans l'embryon.

La teneur en extrait alcoolique total de 100 grammes secs et dégraissés de l'embryon varie de 50 à 66 p. 100 au cours de l'incubation ; ces variations ne sont pas systématiques.

La teneur en lipides totaux de 100 grammes d'embryon secs et dégraissés oscille entre 30 et 35 p. 100 jusqu'au dix-neuvième jour, pour atteindre 44 p. 100 à cette époque et rester au-dessus de 40 p. 100 jusqu'à l'éclosion.

Les acides gras des glycérides augmentent constamment dans l'embryon. Cette augmentation n'est toutefois pas régulière. Jusqu'au douzième jour, la teneur en acides gras reste assez faible, puis on assiste à une augmentation rapide : l'augmentation journalière par unité de masse atteint 131 au quinzième jour.

Dans l'œuf total, on constate une disparition de 1 gr. 380 d'acides gras, qui ont couvert la majeure partie des dépenses énergétiques de l'embryon. L'azote extractif fait à peu près 10 p. 100 de l'azote total jusqu'au quinzième jour ; 5,5 à 7 p. 100 à partir de cette date jusqu'à l'éclosion.

L'azote total de l'œuf ne varie pas. Les substances extractives azotées du résidu diminuent fortement ; il n'en reste pratiquement plus à la fin de l'incubation. Ces données nous ont fait admettre que l'utilisation des protides hydrolysés du résidu, par l'embryon, doit être complète. D'un autre côté, nous avons rassemblé les données qui se trouvent dans la bibliographie, sur les produits de l'oxydation des protides éliminés, par l'embryon au cours de l'incubation, et leur rôle dans les échanges totaux.

Nous avons étudié la composition des protides de l'*embryon*. La teneur des protides en azote total reste à peu de chose près constante durant l'embryogenèse et dans ces protides l'arginine ne varie pas, de stade en stade, de plus de 5 p. 100. Au contraire, la cystine peut varier de 40 p. 100. La teneur en cystine des protides augmente régulièrement avec l'âge de l'embryon, sans que l'apparition et la multiplication des plumes, suffisent à expliquer ce phénomène. Les rapports $\frac{\text{glutathion}}{\text{azote total}}$ et $\frac{\text{glutathion}}{\text{cystine}}$ diminuent fortement au cours du développement.

Le rapport $\frac{\text{soufre organique total}}{\text{azote total}}$ dans l'embryon reste constant.

Nos résultats concernant l'évolution des protides au cours du développement nous ont conduit à admettre l'hypothèse de la présence d'un noyau central dans la molécule des protides, dont l'arginine serait un représentant qualifié.

Ce noyau central serait le même pour tous les tissus de l'embryon ; l'existence possible de chaînes latérales liées à ce noyau et constituées par des amino-acides quantitativement et qualitativement variables dans certains protides attend une vérification expérimentale plus étendue que celle fournie par la cystine.

En nous basant sur les résultats fournis par l'étude quantitative des divers constituants de l'embryon, nous avons discuté la signification des courbes exprimant l'accroissement total en fonction de l'âge.

Les variations quantitatives des constituants de l'œuf autres que l'embryon nous ont montré que l'azote total des protides de ce reste ne variait pas de façon systématique en fonction du temps ; l'arginine et le rapport $\frac{\text{cystine}}{\text{azote total}}$ restent fixes dans ces protides.

La teneur de l'*œuf total* en arginine est à 4 p. 100 près la même du début à la fin de l'incubation. Le soufre organique diminue de 3 p. 100 tandis que le soufre minéral augmente dans la même proportion durant l'embryogenèse. Il n'y a

donc ni destruction ni synthèse des acides aminés étudiés durant le développement.

L'absence de modifications dans la molécule des protides du reste de l'œuf montre qu'il n'y a pas de choix, dans les produits d'hydrolyse de leur molécule, pour l'organisation de l'embryon — toute molécule hydrolysée est intégralement utilisée soit pour la construction des tissus, soit comme source d'énergie.

La discussion des données acquises nous a permis d'établir la part prise par les glucides dans les processus énergétiques qui se passent durant le développement de l'embryon ; importante au début de l'embryogenèse, cette part est faible si l'on considère l'ensemble des dépenses énergétiques.

Nous avons également essayé de dégager la grandeur de l'énergie de synthèse, elle est petite ; la majeure partie de l'énergie chimique utilisée par l'embryon est de l'énergie d'entretien. Rien ne permet d'affirmer ou de nier, dans l'état actuel de nos connaissances, l'existence d'une énergie de structure.

BIBLIOGRAPHIE DU DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE

1. ARON (Max). — L'évolution morphologique et fonctionnelle des îlots endocrines du pancréas embryonnaire. *Arch. d'Anatomie, d'Histologie et d'Embryologie*, t. II, pp. 69-113, 1922.
2. ARON (Max). — Le glycogène du foie embryonnaire. Déterminisme de sa formation. *Bull. de la Soc. Chim. Biol.*, t. IV, p. 209, 1922.
3. ABDERHALDEN (E.) u. KEMPE (M.). — Vergleichende Untersuchungen über den Gehalt von befruchteten Hühnereiern in verschiedenen Entwicklungsperioden an Tyrosin, Glykokoll und an Glutaminsäure. *Zeitschr. für physiologische Chemie*, t. CLIII, p. 398, 1907.
4. AGGAZZOTTI. — *Arch. ital. Biol.*, t. XLI, pp. 287-305, 1913, cit. J. NEEDHAM.
5. AGGAZZOTTI. — Le variazioni dell'azoto totale, aminico, ammoniacale e dell'acqua nell'ovo di gallina durante l'incubazione. *Arch. di Scienze Biol.*, t. I, p. 120, 1919.
6. AUBEL (E.) et WURMSER (R.). — Sur l'utilisation de l'énergie libérée par les oxydations. *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXIX, p. 848, 1924.
7. BAKOUNINE (S.). — Sur l'activité sécrétrice des épithéliums de

- Wolff et des épithéliums rénaux dans les premiers jours du développement embryonnaire. *Arch. ital. de Biol.*, t. XXIII, p. 350, 1895.
8. BAKOUNINE (S.). — Sur l'évolution des fonctions embryonnaires. *Arch. ital. de Biol.*, t. XXIII, p. 420, 1895.
 9. BEUMER (H.). — Über Cholesterin. Bilanz und Cholesterin Ansatz. *Zeitschr. f. d. ges. exp. Med.*, t. XXXV, p. 329, 1923.
 10. BIERRY (H.). — Le sucre protéidique. *C. R. Ac. Sc.*, t. CXXXIIC, p. 1225, 1919.
 11. BIERRY (H.) et VIVARIO (R.). — Dosage des albumines globales du plasma sanguin. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIX, pp. 13, 15, 18, 1923.
 12. BIERRY (H.) et VIVARIO (R.). — Étude comparative des protéines plasmatiques chez l'homme à l'état normal et à l'état pathologique. *Laboratoire de chimie de la Faculté de médecine de Paris*.
 13. BOHR (Chr.) und HASSELBALCH (K.). — Ueber die Kohlensäureproduktion des Hühnerembryos. *Skandin. Arch. f. Physiol.*, t. X, p. 149, 1900.
 14. BOHR (Chr.). — Der respiratorische Stoffwechsel des Säugthierembryos. *Skand. Arch. f. Physiol.*, t. X, p. 413, 1900.
 15. BOHR (Chr.) und HASSELBALCH (K.). — Ueber die Wärmeproduction und den Stoffwechsel des Embryos. *Skand. Arch. f. Physiol.*, t. XV, p. 398, 1903.
 16. BONOT (A.) et CAHN (Th.). — Dosage de l'arginine dans les protides purs et les tissus par la méthode de JANSEN modifiée. *C. R. Ac. des Sc.*, t. CXVIC, p. 246, 1927.
 17. BONOT (A.) et CAHN (Th.). — Dosage de l'arginine par la méthode de JANSEN modifiée. *Bull. Soc. chim. biol.*, t. IX, p. 1001, 1927.
 18. BYWATERS (H. W.). — Nutrition of the embryonic chick. I. — The absorption of egg white. *Journ. of Physiol.*, t. VL, p. xL, 1913.
 19. CAHN (Th.). — Dégénérescence musculaire. Assimilation fonctionnelle et action nerveuse. Contribution à l'étude des équilibres cellulaires. *Ann. de Physiol. et Physicochimie biol.*, t. III, p. 4, 1927.
 20. CASPARI (W.) und STILLING (E.). — Der Eiweisstoffwechsel in Hdbch. der Bioch. 2^e Aufl., t. VIII, p. 636, 1925.
 21. DUVAL (M.). — Atlas d'Embryologie, Paris.
 22. EAVES (E. C.). — The transformations in the fats in the hen's egg during development. *Journ. of physiology*, t. XL, p. 451, 1910.
 23. EULER (H. v.). — Enzymchemische Beitr. zur Kenntnis des gekoppelten Fett und Kohlehydratstoffwechsels I. *Biochem. Zeitschr.*, t. CLXIV, p. 18, 1925.
 24. FAURÉ-FRÉMIET (E.). — La cinétique du développement, *Les Presses Universitaires de France*, Paris, 1925.

25. FISKE (C. H.) and BOYDEN (E. A.). — Nitrogen metabolism in the chick embryo. *Journ. of biol. Chem.*, t. LXX, p. 535, 1925.
26. FOURNEAU (E.). — Les phosphatides. *Bull. Soc. Chimie Biol.*, II, p. 67, 1919.
27. FRIDERICIA (L. S.). — Unters. über die Harnsäureproduktion und die Nukleoprotein Neubildung beim Hühnerembryo. *Skand. Arch. f. Physiol.*, t. XXVI, p. 1, 1911.
28. FURTH (O. v.). — Lehrbuch der physiol. u. path. Chemie., t. II, p. 220, Verl. f. C. W. Vogel, Leipzig, 1927.
29. GADASKIN (I. D.). — Ueber den Gehalt an ungebundenem Zucker in dem Weissen und Dotter der Hühnereier bei Ontogenese. *Biochem. Zeitschr.*, t. CLXXII, pp. 447-450, 1926.
30. GAYDA (Tullio) — Ricerche di calorimetria.
1° Il calorimetro differenziale.
2° La produzione di calore nello sviluppo ontogenetico del « Bufo vulgaris ». *Arch. de Fisiol.* XIX, p. 211, 1921.
Travaux du Laboratoire de Physiologie de l'Université de Turin.
31. GOMPEL (M.), MAYER (A.) et WURMSER (R.). — Recherches sur l'oxydabilité des corps organiques à la température ordinaire. *C. R. Ac. Sc.*, t. CXXIIC, p. 1025, 1924.
32. HARI (P.). — Unters. über die Wärmetönung von Enzymreaktionen. III Ueber die Wärmetönung der Trypsinverdauung des Eiweisses. *Pflüger's Arch.*, t. CXV, p. 11, 1906.
33. HARI (P.). — V. Ueber die Wärmetönung des Pepsinverdauung des Eiweisses. *Pflüger's Archiv.*, t. CXXI, p. 459, 1908.
34. HASSELBALCH (K. A.). — Ueber den respiratorischen Stoffwechsel des Hühnerembryos. *Skand. Arch. f. Physiol.*, t. X, p. 353, 1900.
35. HASSELBALCH (K. A.). — Ueber Sauerstoffproduktion im Hühnerei. *Skand. Arch. f. Physiol.*, t. XIII, p. 171, 1902.
36. HENRIQUES (V.) und HANSEN (C.). — Ueber den Uebergang des Nahrungsfettes in das Hühnerei und über die Fettsäure des Lecithins. *Skand. Archiv. f. Physiol.*, t. XIV, p. 390, 1903.
37. HEATON (T. B.). — The nutritive requirements of growing cells. *Journ. of Path. and Bact.*, t. XXIX, p. 293, 1926.
38. IDZUMI (S.). — Biochemische und Serologische Untersuchungen von bebrüteten Hühnereiern. *Mittlg. a. d. Med. Fak. Tokyo*, t. XXXII, p. 197, 1924.
39. KAYSER (Ch.), LE BRETON (Eliane) et SCHAEFFER (G.). — Grandeur de la respiration des tissus et masse active au cours du développement des organismes. *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXXI, p. 255, 1925.
40. LAMBLING (E.). — Précis de Biochimie. Masson et C^{ie}, Paris, 1911.
41. LE BRETON (E.) et SCHAEFFER (G.). — Variations biochimiques du rapport nucléo-plasmatique. Masson et C^{ie}, Paris, 1923.

- 41 bis. LEMELAND (P.). — Recherches sur le dosage des lipoides dans le sang et les tissus. III. a) Nouvelle méthode de dosage de l'insaponifiable et des acides gras totaux ; b) Observations sur le dosage du phosphore lipoidique total dans les tissus. *Bull. Soc. de Chimie biol.*, t. V, p. 110, 1923.
42. LEMOIGNE (M.). — Origine chimique des produits de déshydratation et de polymérisation de l'acide β oxybutyrique ; fermentation oxybutyrique. *Bull. Soc. Chimie Biol.*, t. IX, p. 446, 1927.
43. LEVENE (P. A.) and ROLF (J. P.). — The unsaturated fatty acids of egg lecithins. *Journ. of Biol. Chem.*, t. LIX, p. 507, 1922.
44. MAYER (A.) et SCHAEFFER (G.). — Constance de la concentration des organismes entiers en lipoides phosphorés ; concentration en lipoides au cours de la croissance. Application à la biométrie. *C. R. Ac. Sc.*, t. CLIX, p. 102, 1914.
45. MAYER (A.) et SCHAEFFER (G.). — Recherches sur la teneur des tissus en lipoides. Existence possible d'une constante lipocyttique. *Journ. de Phys. et Path. gén.*, t. XV, p. 510, 1913.
46. MAYER (A.) et SCHAEFFER (G.). — Recherches sur la teneur des tissus en lipoides. Teneur des tissus en phosphore lié aux lipoides. *Journ. de Phys. et de Path. gén.*, t. XV, p. 773, 1913.
47. MAYER (A.) et SCHAEFFER (G.). — Recherches sur les constantes cellulaires. Teneur des cellules en eau. *Journ. de Physiol. et de Path. gén.*, t. XVI, p. 23, 1913.
48. MAYER (A.) et SCHAEFFER (G.). — Recherches sur les variations des équilibres cellulaires. Variations de la teneur des tissus en lipoides et en eau au cours de l'inanition absolue. *Journ. de Physiol. et de Path. gén.*, t. XVI, p. 203, 1914.
49. MENDEL (Lafayette B.) and LEAVENWORTH (Ch. S.). — Chemical studies on growth. VI Changes in the purine, pentose, and cholesterol content of the developing egg. *Am. Jl. of Physiol.*, t. XXI, p. 77, 1908.
50. MEYERHOF (O.). — Unters. über die Wärmetönung der vitalen Oxydationsvorgänge in Eiern. *Biochem. Zeitschr.*, t. XXXV, p. 246, 1911.
51. MEYERHOF (O.). — Über Wärmetönung chemischer Prozesse in lebenden Zellen. *Pflüger's Arch.*, t. CLIV, p. 159, 1912.
52. MEYERHOF (O.). — Unters. über den Atmungsvorgang nitrifizierender Bakterien. I Die Atmung des Nitratbildners. *Pflüger's Arch.*, t. CLXIV, p. 353, 1916.
53. MOLLIARD (M.). — Recherches calorimétriques sur l'utilisation de l'énergie respiratoire au cours du développement d'une culture de *Stérigmatocystis nigra*. *C. R. Soc. Biol.*, t. XCIII, p. 219, 1922.
54. MUELLER (J. H.). — The cholesterol metabolism of the hen's

- egg during incubation. *Journ. Biol. Chemist.*, t. XXI, p. 23, 1915.
55. MURRAY (jr. H. A.). — Physiological ontogeny. 1. Chicken Embryos. 2. Catabolism. Chemical changes in fertile eggs during incubation. Selection of standard conditions. *Journ. of gener. Phys.*, t. IX, p. 1, 1925.
 56. MURRAY (jr. H. A.). — 3. Weight and growth rate as function of age. *Journ. of gen. Physiol.*, t. IX, p. 38, 1925.
 57. MURRAY (jr. H. A.). — 7. The concentration of the organic constituents and the calorific value as function of age. *Journ. of gener. Phys.*, t. IX, p. 405, 1926.
 58. MURRAY (jr. H. A.). — 8. Accelerations of Integration and differentiation during the embryonic period. *Journ. of gen. Physiol.*, t. IX, p. 603, 1926.
 59. MURRAY (jr. H. A.). — 9. The iodine reaction for the quantitative determination of glutathione in the tissues as a function of age. *Journ. of gener. Physiol.*, t. IX, p. 621, 1926.
 60. MURRAY (jr. H. A.). — 10. The temperature characteristics for the contraction rate of isolated fragments of embryonic heart muscle. *Journ. of gener. Phys.*, t. IX, p. 781, 1926.
 61. MURRAY (jr. H. A.). — 11. The pH, chloride, carbonic acid, and protein concentration in the tissues as functions of age. *Journ. of gener. Physiol.*, t. IX, p. 789, 1926.
 62. NEEDHAM (J.). — The metabolism of the developing egg. Physiological reviews., t. V, p. 1, 1925.
 63. NEEDHAM (J.). — The energy-sources in ontogenesis.
I. The urea content of the developing avian egg. *The Brit. Journ. of exp. Biol.*, t. III, p. 189, 1926.
 64. NEEDHAM (J.). — II. The uric acid content and the general protein metabolism of the developing avian egg. *The Brit. Journ. of exp. Biol.*, t. IV, p. 114, 1926.
 65. NEEDHAM (J.). — III. The ammonia content of the developing avian egg and the theory of recapitulation. *The Brit. Journ. of exp. Biol.*, t. IV, p. 145, 1926.
 66. NEEDHAM (J.). — The carbohydrate metabolism in amphibian embryogenesis. *Quart. Journ. of exp. Physiol.*, t. XVIII, p. 153, 1927.
 67. NEEDHAM (J.). — The free carbohydrate of the developing chick. *Quart. Journ. of exp. Physiol.*, t. XVIII, p. 161, 1927.
 68. OSTWALD (W.). — Über oxydationen mittels freiem Sauerstoff. *Zeitschr. für Physik chem.*, t. XXXIV, p. 248, 1900.
 69. PARNAS (J. K.) and KRASINSKA (Z.). — Über den Stoffwechsel der Amphibienlarven. *Biochem. Zeitschr.*, t. CXVI, p. 108, 1921.
 70. PLIMMER and SCOTT. — The transformations in the phosphorus compounds in the hen's egg during development. *Journ. of Physiol.*, t. XLII, p. 247, 1909.

71. PLIMMER (R. H.) and ROSEDALE (J. L.). — Analysis of proteins. VI. Distribution of nitrogen in the proteins of eggs. *The Bioch. Journ.*, t. XIX, p. 1015, 1925.
72. PLIMMER (R. H. A.) and LOWNDES (J.). — Changes in the amino-acids in the proteins of the hen's egg during development. *The Bioch. Journ.*, t. XXI, p. 254, 1927.
73. POHORECKA-LELESZ (M^{me} B.). — Dosage microvolumétrique du soufre dans les liquides biologiques. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. IX, p. 263, 1927.
74. POTVIN (R.) et ARON (M.). — Recherches sur l'évolution embryonnaire des îlots pancréatiques endocrines chez le poulet. *C. R. Soc. Biol.*, t. XCVI, p. 267, 1927.
75. RIDDLE (O.). — Studies on the physiology of reproduction.
 1. The occurrence and measurement of a sudden change in the rate of growth of avian ova.
 2. On the metabolism of the egg yolk of the fowl during incubation. *The American Journ. of Physiol.*, t. LIX, p. 387, 1916.
76. RUSSO (G.). — Il metabolismo delle basi esoniche e l'origine del nucleo purinico nello sviluppo dell'uovo di gallina. *Arch. di Scienze Biol.*, t. X, p. 128, 1927.
77. SATO (G.). — Über das Verhalten des im Eierklar sowie im Dotter Vorhandenen Traubenzuckers bei der Bebrütung der Hühnereier. *Acta Scholae medic. Kyoto*, t. I, p. 375, 1916.
78. SENDJU (Y.). — Über das Verhalten der lebenswichtigen Aminosäuren bei der Bebrütung des Hühnereies. *The Journ. of Bioch.*, vol. V, n° 3, 1925.
79. SENDJU (Y.). — Über das Verhalten der lebenswichtigen Aminosäuren bei der Bebrütung des Hühnereies. II Über das Verhalten des Cystins resp. Cysteins bei der Bebrütung des Hühnereies. *The Journ. of Bioch.*, vol. VII, n° 1, 1927.
- 79 bis. SPACH (M^{me} E.) et GIRARDIN (R.). — Sur le microdosage pondéral du cholestérol. *Bull. Soc. chim. biol.*, t. VIII, p. 813, 1926.
80. TANGL (Fr.) und MITUCH (A. V.). — Beiträge zur Energetik der Ontogenese. V. Weitere Unters. über die Entwicklungsarbeit und den Stoffumsatz im bebrüteten Hühnerei. *Pflüger's Archiv.*, t. XCIX, p. 437, 1908.
81. TANGL (Fr.) and MITUCH (A. V.). — Über die Gültigkeit des Rubnerschen Wachstumgesetzes in Verschiedenen Tierklassen. *Biochem. Zeitschr.*, t. XCI, p. 283, 1918.
82. TERROINE (E. F.) et WURMSER (R.). — L'énergie de croissance. I. Le développement de l'*Aspergillus Niger*. *Bull. Soc. de Chimie biol.*, t. IV, p. 623, 1922.
83. THANNHAUSER (S. J.) und SCHABER (H.). — Kann der tierische organismus Cholesterin synthetisieren? *Zeitschr. f. Physiol. Chemie*, t. CXXVII, p. 278, 1923.

84. TOMITA (M.). — Über die Bildung von d-Milchsäure in tierischen Organismus. *Biochem. Zeitschr.*, t. CXVI, p. 1, 1921.
 85. TOMITA (M.). — Über die Bildung von d-Milchsäure im tierischen Organismus. *Biochem. Zeitschr.*, t. CXVI, p. 1, 1921.
 86. TOMITA (M.). — Über das Verhalten des im Eierklar sowie im Dotter Vorhandenen Reststickstoffes bei Bebrütung von Hühnereiern. *Biochem. Zeitschr.*, t. CXVI, p. 12, 1921.
 87. TOMITA (M.). — Über das Verhalten des im Eierklar sowie im Dotter vorhandenen Reststickstoffes bei Bebrütung von Hühnereiern. *Biochem. Zeits.*, t. CXVI, p. 12, 1921.
 88. TOMITA (M.). — Über die Bildung der Fleischmilchsäure im tierischen Organismus. Über die Bildung von d-Milchsäure bei der Autolyse der Hühnereier. *Biochem. Zeitschr.*, t. CXVI, p. 28, 1921.
 89. TOMITA (M.). — Über den Einfluss der Zugabe von Traubenzucker und Alanin zum Weissel auf die Bildung der d-Milchsäure bei der Bebrütung. *Biochem. Zeitschr.*, t. CLXXVII, p. 15, 1926.
 90. TOMITA (M.). — Über das Verhalten des bei der Bebrütung von Hühnereiern dem Eiweiss Zugesezten Traubenzucker. *Biochem. Zeitschr.*, t. CLXXVII, p. 22, 1922.
 91. VILA (A.) et ANCELLE (R.). — Appareil et procédé pour minéraliser les matières organiques. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. IX, p. 340, 1927.
 92. VRBITCH (S.). — Sur l'absorption du liquide amniotique par l'embryon. *C. R. Soc. Biol.*, t. XCI, p. 604, 1924.
 93. WLADIMIROFF (G. E.). — Beiträge zur Embryochemie und Embryophysiologie. I. Einige physikalisch-chemische Veränderungen des Eiereiweisses sich Entwickelnder Hühnereier. *Biochem. Zeitschr.*, t. CXXIIIC, p. 281, 1926.
 94. WLADIMIROFF (G. E.) und SCHMIDT (A. A.). — II. Zucker, Rest und Gesamtstickstoffgehalt im Eiereiweiss sich entwickelnder Hühnereier. *Biochem. Zeitschr.*, t. CLXXVII, p. 298, 1926.
 95. WLADIMIROFF (G. E.) und SCHMIDT (A. A.). — III. Zucker, Fett, und Reststickstoffgehalt im Blute des Hühnerembryos. *Biochem. Zeitschr.*, t. CLXXVII, p. 304, 1926.
 96. WURMSER (R.). — L'énergétique et la biochimie. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. V, p. 506, 1923.
 97. ZUNTZ (N.). — Betrachtungen über die Beziehungen zwischen Nährstoffen und Leistungen des Körpers (Die Quellen der Muskelkraft). *Hdbch. der Bioch.*, 2^{te} Aufl. vol. VI, p. 411, 1923.
-

VARIATIONS DES PRINCIPAUX CONSTITUANTS DE L'ORGANISME AU COURS DU JEUNE

Dans cette deuxième partie de notre travail, nous allons étudier les différents problèmes que pose l'analyse chimique et des organismes totaux, et des différents organes.

Dans une première série d'expériences, nous nous sommes adressés à des animaux entiers que nous avons analysés au début et à la fin du jeûne ⁽¹⁾.

Dans une deuxième série d'expériences, nous avons analysé différents organes d'animaux de plusieurs espèces avant et après l'inanition.

Dans une troisième série d'expériences, nous avons réuni nos résultats sur la composition des protides de différents organes et sur les variations de leur constitution au cours du jeûne.

⁽¹⁾ On trouvera à la fin du travail la technique générale suivie pour les différents dosages ainsi que la description des techniques nouvelles employées par nous.

INTRODUCTION

Nous avons accordé, dans nos études sur le jeûne, une place importante aux constituants protoplasmiques phosphorés. Depuis longtemps les biologistes ont reconnu l'importance capitale de cet élément, aussi caractéristique de la matière vivante que l'azote, cependant, aucune théorie générale de son rôle n'a jusqu'ici été donnée, qui permette de comprendre pourquoi nous le voyons intervenir partout où se font des opérations métaboliques importantes. L'acide phosphorique éthérifie fréquemment des alcools (inositol de la phytine, glucose de l'acide hexosephosphorique, pentose dans l'acide nucléique, glycérine dans l'acide glycérophosphorique) et semble en préparer partout la combustion ; par ailleurs, nous le voyons combiné soit à la molécule de certains protides (caséine), soit à certains de ses constituants, les acides aminés (acide argininephosphorique). Nous le rencontrons encore dans les extractifs azotés comme l'acide créatine-phosphorique.

Mais, en dehors de toutes considérations biochimiques pouvant nous renseigner actuellement d'une façon précise sur le rôle de cet élément, son importance ressort de considérations d'ordre statique. GRUND, par exemple, a nettement établi que, dans les tissus vivants, le rapport de l'azote total au phosphore total était constant ; nous-même, dans un travail antérieur (CAHN) (10), avons pu montrer que, dans les muscles de Chien, le rapport $\frac{\text{phosphore lipodique}}{\text{phosphore total}}$ était

remarquablement constant, une atrophie de quatre mois ou un jeûne de trente jours, n'en pouvant altérer la valeur, Par ailleurs, la constance de concentration des tissus ou des organismes entiers apparut si remarquable à MAYER et SCHAEFFER qu'ils tentèrent d'utiliser ce constituant à des fins biométriques (1914).

La constance, établie par nous, du rapport

$$\frac{\text{phosphore lipidique}}{\text{phosphore total}}$$

semble, *a priori*, en faveur de l'idée que toutes les formes de phosphore seraient engagées dans un équilibre général à l'intérieur du protoplasme.

Parmi les composés phosphorés, dignes de retenir notre attention figure, au premier chef, l'acide nucléique. Sa localisation élective dans le noyau en fait un représentant de cette entité morphologique ; la détermination du phosphore nucléique devient alors un procédé simple pour chiffrer les variations de la masse du noyau par rapport à tel ou tel constituant cellulaire protoplasmique. L'étude de tels équilibres et de leurs variations tire son intérêt du fait que nous ne connaissons actuellement rien du mécanisme exact par lequel le noyau commande à certaines manifestations essentielles de la vie cellulaire.

Si l'acide phosphorique préside à la combustion des graisses dans la molécule des phosphatides (O. LÆW), à celle des sucres dans les hexosephosphates et le lactacidogène (HARDEN et YOUNG, EMBDEN), il n'est pas, *a priori*, impossible que dans l'acide nucléique il soit indirectement engagé dans un équilibre dont dépend l'augmentation ou la diminution de masse des protides qui constituent les deux tiers de la cellule. Ceci reviendrait, en somme, à faire jouer un rôle à l'acide nucléique dans la grandeur des échanges. Non pas qu'il entre un seul instant dans notre esprit l'idée qu'une proportionnalité rigoureuse puisse exister entre l'activité d'un tissu, ou d'un organisme entier, et sa teneur en acide nucléique. Cette conception simpliste, faussement attribuée à LE BRETON et SCHAEFFER par TERROINE, et qu'il a tenté de vérifier avec ses collaborateurs, dépasse de beaucoup les conclusions

qu'on peut tirer d'un parallélisme rencontré chez l'embryon, entre la réduction progressive de concentration en substances nucléaires et la diminution relative de la production thermique. Si, au cours de l'embryogenèse, la concentration en acide nucléique ne fait que déterminer la vitesse de différenciation morphologique ou physicochimique des tissus, il en peut résulter, quand ce constituant diminue de concentration, une réduction relative des mutations d'énergie. Mais le transport du parallélisme constaté chez l'embryon au cas de l'adulte perd tout sens, si l'on cherche dans l'acide nucléique, comme l'a fait TERROINE, la masse active elle-même et qu'on néglige l'existence de tous les facteurs chimiques ou physico-chimiques directs ou indirects intervenant pour modifier la grandeur des oxydations. Par ailleurs, si le rapport $\frac{\text{phosphore nucléique}}{\text{azote total}}$ nous donne un moyen d'exprimer la

valeur de la relation nucléoplasmique, nous devons pouvoir saisir une variation progressive de ce rapport au cours du jeûne prolongé, dans les organes où, comme dans le foie, les histologistes ont pu constater une réduction évidente de la masse du protoplasme par rapport à celle du noyau. On sait que MORGULIS, par exemple, a donné des figures fort démonstratives de la réalité de ce phénomène.

On voit quelles multiples raisons pouvaient nous conduire à entreprendre une étude détaillée des modifications que peuvent subir les constituants phosphorés de la cellule au cours du jeûne prolongé.

PREMIÈRE PARTIE

Variations des constituants de l'organisme entier

A. — ÉVOLUTION DE LA CRÉATINE DANS LE JEUNE (*Recherches sur la Souris*). — Nous avons recherché dans ces expériences quelles étaient les variations de la créatine chez les Souris soumises au jeûne, et nous avons comparé les résultats obtenus à ceux que l'on observe chez les Souris normales. Il s'agit ici de déterminations faites sur l'organisme entier.

Les Souris normales étaient tuées après un jeûne préliminaire de deux à quatre heures afin d'éliminer, autant que possible, les erreurs de pesée dues à la présence d'une grande quantité d'aliments dans le tube digestif. La vessie était de même évacuée par pression.

Les animaux étaient tués par la vapeur de chloroforme, puis broyés instantanément. La bouillie obtenue était projetée dans l'eau bouillante ; l'extraction et le dosage étaient pratiqués par la méthode de V. C. MYERS et FINE (32) qui nous a semblé la plus fidèle. Nous n'avons fait que quelques déterminations par la technique de BAUMANN, qui nous a donné des chiffres plus élevés en valeur absolue, sans que le sens général de nos comparaisons fut en rien modifié. Les déterminations colorimétriques ont été pratiquées au colorimètre de DUBOSQ ; la solution standard était établie à l'aide d'acide picrique purifié, selon STANLEY BENEDICT, et en suivant les indications de cet auteur. Un grand nombre de

lectures — six à huit — étaient toujours faites pour chaque dosage et l'on en prenait la moyenne.

Sur une partie aliquote de l'extrait, où l'on dosait la créatine, on déterminait l'azote extractif. Le magma dont la créatine avait été extraite, constitué par le corps entier de la Souris, était hydrolysé et, sur une prise faite par pesée, on déterminait l'azote total.

Les tableaux suivants (tableaux I et II) contiennent l'ensemble des résultats obtenus sur les souris totales, normales ou à jeun.

Composition moyenne d'une Souris.

	PAR ANIMAL		POUR 100 GRAMMES			
			frais		d'azote	
	norm.	inan.	norm.	inan.	norm.	inan.
	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.
Poids frais	21,2	13,47	—	—	—	—
Azote total	0,606	0,410	2,93	3,42	—	—
Créatine totale	0,026	0,0207	0,123	0,140	4,28	4,42

L'azote total présente l'augmentation apparente bien connue due à la fonte rapide des lipides, qui détermine une concentration plus grande des protides.

Par rapport à 100 grammes d'azote, la créatine semble augmenter, c'est-à-dire qu'elle diminue moins vite que l'azote. Cette augmentation apparente de la concentration en créatine totale, pour 100 grammes d'azote, est encore plus accusée, si on calcule la composition de l'animal avant le jeûne, d'après des moyennes, calcul rendu possible par le fait que l'on connaît le poids frais initial des animaux avant le jeûne.

Variation de la teneur en azote total et en créatine des Souris au cours du jeûne d'après les moyennes des chiffres obtenus (en grammes).

	Avant le jeûne	Après le jeûne	Perte	Pertes en %.
Poids frais	19,95	13,47	6,48	32,4
Azote total	0,571	0,410	0,161	28,2
Créatine totale. .	0,0245	0,0207	0,0038	15,5

Mais ce procédé de calcul est sujet à critique.

Les meilleurs chiffres, pour le calcul de la teneur en azote

de l'animal avant le jeûne, sont ceux qui indiquent la teneur en azote pour 100 grammes frais de l'animal normal ; les extrêmes sont 2,7 et 3,09, soit un écart de 6,3 p. 100 autour de la moyenne. La moyenne est de $2,93 \pm 0,04$. Pour calculer la teneur en créatine de l'animal avant le jeûne, on se sert de préférence du rapport $\frac{\text{créatine}}{\text{azote total}}$ de l'animal normal.

Les valeurs de ce rapport oscillent entre 3,93 et 4,58, soit un écart de 7,1 p. 100 autour de la moyenne, qui est de $4,28 \pm 0,07^{(1)}$

Nous avons fait les mêmes calculs pour les animaux ayant jeûné, en nous servant des mêmes rapports.

La teneur en créatine pour 100 grammes d'azote total est de $4,42 \pm 0,075$ en moyenne pour l'animal ayant jeûné. La variation de composition d'un animal, au cours du jeûne, est, d'après ces calculs, la suivante :

	Avant le jeûne	Après le jeûne	Perte	Pertes en %
Poids frais	19,95	13,47	6,48	32,4
Azote total	0,585	0,460	0,125	21,4
Créatine totale. . .	0,025	0,0203	0,0047	18,8

Comme on le voit, les variations réciproques de l'azote total et de la créatine totale sont beaucoup moins importantes par ce procédé de calcul, qui est le plus exact, et il est facile de constater que ces variations tombent dans les limites des erreurs expérimentales.

D'après nos chiffres, il est donc impossible de conclure à une différence dans les vitesses de disparition respectives de l'azote total et de la créatine au cours du jeûne.

(1) La précision du chiffre est obtenue par la formule :

$$\frac{0,6745 \times \text{écart moyen}}{\sqrt{\text{nombre des résultats}}}$$

TABLEAU I

Teneur en azote total et en créatine totale de Souris normales.

Nos	Poids	AZOTE TOTAL		CRÉATINE		
		Par animal	Pour 100 grammes frais	Par animal	Pour 100 grammes frais	Pour 100 gr. d'azote
	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.
3	24,8	0,726	2,92			
4	18,7	0,578	3,09			
5	24,11	0,710	2,95			
6	17,37	0,537	3,09			
7	20,02	0,560	2,80	0,0242	0,120	4,49
8	18,77	0,548	2,92	0,022	0,116	4,00
9	19,74	0,603	3,06	0,0272	0,137	4,50
10	24,09			0,0252	0,104	
11	21,34			0,0276	0,124	
12	25,00			0,0282	0,112	
101	24,87	0,710	2,85	0,0296	0,119	4,17
102	23,69	0,690	2,91	0,0274	0,115	3,97
50	17,13	0,463	2,70	0,0182	0,107	3,93
51	17,30	0,473	2,75	0,0206	0,119	4,36
52	24,15	0,688	2,85	0,033	0,136	4,40
53	19,81	0,597	3,01	0,0278	0,140	4,16
54	20,21	0,602	2,98	0,0276	0,137	4,58
55	20,00	0,608	3,04	0,0273	0,137	4,48
Moy....	21,2	0,606	2,93	0,026	0,123	4,28

TABLEAU II

Teneur en azote total et en créatine totale de Souris ayant jeûné.

Nos	Poids	AZOTE TOTAL		CRÉATINE			Perte de poids
		Par animal	Pour 100 grammes frais	Par animal	Pour 100 grammes frais	Pour 100 grammes d'azote	
	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	%
17	22,53-15,39	0,501	3,26	0,0213	0,139	4,25	31,6
18	22,67-15,70	0,535	3,41	0,0256	0,163	4,77	30,8
19	22,56-15,40	0,532	3,45	0,0234	0,152	4,4	31,8
20	23,79-16,21	0,584	3,61	0,0274	0,169	4,69	31,0
22	21,53-14,00	0,481	3,51	0,0227	0,105	4,72	35,0
56	15,91-10,54	0,351	3,32	0,0156	0,148	4,45	33,7
57	15,27-10,21	0,346	3,39	0,0151	0,148	4,37	33,1
58	15,33-10,28	0,347	3,38	0,0143	0,139	4,11	33,0
Moyenne	19,95-13,47	0,410	3,42	0,0207	0,140	4,42	

B. — ÉVOLUTION DE DIFFÉRENTS COMPOSÉS AU COURS DU JEUNE (*Recherches faites sur le Rat*). — Dans une deuxième série d'expériences faites sur le Rat et s'adressant à des animaux entiers, nous avons dosé l'azote total, le phosphore nucléique, la cholestérine et le phosphore lipidique. Ces dosages ont été faits sur neuf Rats normaux, après un jeûne de quatre heures, et sur six Rats, après un jeûne prolongé jusqu'à une perte de poids de 30 p. 100, les animaux ayant toujours pu boire à volonté.

On trouvera dans les tableaux n° III et n° IV l'ensemble des résultats obtenus. Les dosages de phosphore nucléique n'ont pas été faits en double dans cette série.

En calculant pour 100 grammes frais, à partir des moyennes (l'homogénéité des résultats nous le permet), la composition d'un Rat avant et après le jeûne, on obtient les données suivantes :

	Poids frais — gr.	Azote total — gr.	Phosphore nucléique — gr.	Cholesté- rine — gr.	Phosphore lipidique — gr.
Normal	245	7,210	0,0766	0,495	0,0955
Après jeûne	176	5,350	0,0615	0,421	0,0669
Donc une perte abso- lue de	69	1,860	0,0151	0,074	0,0286
Perte en %	28,2	25,8	19,7	15,	30

L'augmentation de la teneur en azote de 100 grammes frais de l'animal après le jeûne est due à la fonte plus rapide des lipides.

Pour le phosphore nucléique, nous constatons une perte plus faible (19,7 p. 100) que pour l'azote total (25,8 p. 100). Cet écart rentre-t-il dans les erreurs et de la méthode et du choix des moyennes ? Si on tient compte des erreurs autour de la moyenne, nous trouvons les chiffres suivants :

	Azote total —	Phosphore nucléique —
Animal normal.....	7,130	0,0751
Animal ayant jeûné.....	5,480	0,0592
Perte absolue	1,650	0,0159
Perte en pour cent :	23,2	21,2

Cette correction rapproche fortement les chiffres ; il devient difficile de conclure à une différence dans la vitesse de dégra-

TABLEAU III
Composition de Rats normaux.

NUMÉROS	POIDS gr.	AZOTE TOTAL		AZOTE PURIFIQUE		PHOSPHORE NUCLÉIQUE		CHOLESTÉRINE		PHOSPHORE LIPIDIQUE	
		Par animal gr.	Pour 100 gr. frais gr.	Par animal gr.	Pour 100 gr. frais gr.	Par animal gr.	Pour 100 gr. frais gr.	Par animal gr.	Pour 100 gr. frais gr.	Par animal gr.	Pour 100 gr. frais gr.
1	255							0,565	0,222	0,093	0,036
2	232	6,632	2,86	0,079	0,034			0,489	0,210	0,102	0,043
3	217	6,605	3,04	0,068	0,031	0,072	0,033	0,471	0,217	0,100	0,043
4	231	6,721	2,91	0,070	0,030	0,080	0,035	0,464	0,201	0,087	0,038
5	244	7,641	3,12	0,071	0,029	0,074	0,030	0,573	0,234	0,091	0,037
6	237	6,989	2,94	0,071	0,030	0,076	0,032	0,470	0,198	0,092	0,039
13	241	6,675	2,78	0,068	0,028	0,063	0,026	0,461	0,192		
14	240	6,637	2,76	0,059	0,025	0,076	0,032	0,404	0,168		
15	220	6,930	3,15					0,388	0,176		
Moyennes	235		2,94				0,0313		0,202		0,039

TABLEAU IV
Composition de Rats soumis au jeûne.

N ^o	POIDS gr.	AZOTE TOTAL		AZOTE PURIQUE		PHOSPHORE NUCLEIQUE		CHOLESTÉRINE		PHOSPHORE LIPIDIQUE	
		Par animal gr.	Pour 100 gr. frais gr.	Par animal gr.	Pour 100 gr. frais gr.	Par animal gr.	Pour 100 gr. frais gr.	Par animal gr.	Pour 100 gr. frais gr.	Par animal gr.	Pour 100 gr. frais gr.
7	250-175	5,836	3,34	0,054 0,037	0,031 0,021	0,048	0,027	0,382	0,218	0,060	0,034
8	235-155	4,774	3,08	0,056 0,045	0,036 0,029	0,052	0,033	0,403	0,260	0,077	0,049
9	232-171	5,529	3,24	0,059 0,046	0,034 0,027	0,072	0,042	0,374	0,218	0,064	0,037
10	242-180	4,502	2,5	0,070 0,061	0,039 0,034	0,066	0,037	0,398	0,220	0,065	0,036
11	242-176	4,909	2,79	0,058 0,055	0,033 0,031	0,064	0,036	0,395	0,224	0,060	0,034
12	272-202	6,685	3,31	0,065	0,032			0,464	0,230	0,078	0,038
Moy.	245-176		3,04				0,035		0,239		0,038

dation entre l'azote d'une part, et le phosphore nucléique de l'autre. Mais nous n'avons pas analysé un assez grand nombre d'animaux, pour affirmer une identité dans la vitesse de dégradation des deux composés.

Il est loisible de comparer la vitesse de dégradation du phosphore nucléique à celle des protides. Toutefois, ce rapprochement ne signifie pas que les métabolismes de ces deux substances soient directement liés.

DEUXIÈME PARTIE

Variations des constituants des organes

A. — VARIATION PONDÉRALE. — Les analyses faites sur des animaux entiers ne nous renseignent guère sur les processus intimes qui se passent dans l'organisme. Nous avons donc choisi des animaux de taille plus grande pour étudier les modifications qui se passent dans les organes durant le jeûne. Au cours du jeûne prolongé, ils diminuent de poids avec des vitesses inégales, comme l'ont montré plusieurs auteurs depuis les recherches classiques de CHOSSAT (16).

Nous avons effectué ces recherches sur des Cobayes, des Lapins et des Chiens. Dans le cas du muscle, nous avons analysé, en plus des muscles de ces espèces, ceux du Bœuf, de la Poule et du Poisson. Nous ne donnerons pas de protocoles expérimentaux afin de ne pas donner trop d'extension à ce travail. Nous avons poursuivi ces recherches pendant plusieurs années ; elles sont, d'ailleurs, loin d'être terminées, mais certains groupes de résultats nous paraissent suffisamment cohérents pour être rassemblés.

Les animaux examinés ont été préalablement observés pendant quelques jours, au laboratoire, pour s'assurer qu'ils étaient sains et dans un bon état de nutrition. Les animaux normaux n'ont été tués qu'après un jeûne plutôt bref (six heures dans le cas des Cobayes, vingt et vingt-quatre heures dans le cas des Lapins et des Chiens), afin d'éviter une influence possible de la nourriture. La durée de la suppression des

aliments chez les animaux jeûneurs fut toujours telle que la perte de poids était de 30 p. 100 au minimum ; ils recevaient toujours de l'eau à discrétion. Au moment où on les tuait, ils ne présentaient pas de troubles très graves. On les saignait à blanc ⁽¹⁾ et on procédait immédiatement au prélèvement des organes. On trouvera, à la fin du travail, la technique détaillée des différentes manipulations. Le tube digestif, après avoir été enlevé, était immédiatement lavé à l'eau ; puis on se débarrassait de cet excès de liquide à l'aide de papier filtre. Étant donné que l'intestin se compose en fait de deux formations très distinctes (la muqueuse et la musculuse), nous les avons dans deux cas analysées séparément.

Les Cobayes et Lapins, à comparer, étaient choisis d'un poids approximativement égal. Pour les premiers, nous avons dû réunir souvent les organes homologues de plusieurs (jusqu'à huit) ; les résultats de ces dosages sont donc des moyennes.

TABLEAU V

Rapports du poids des organes au poids de l'animal total avant et après le jeûne.

Organes	COBAYES	
	Normal	Inanité
Carcasse.....	47,5 ± 0,645	49,4 ± 0,405
Foie	3,71 ± 0,139	3,14 ± 0,033
Intestin.....	5,71 ± 0,102	6,58 ± 0,054
Peau.....	17,8 ± 0,33	22,3 ± 0,224
Reins.....	0,746 ± 0,028	0,992 ± 0,024
Poumon.....	0,801 ± 0,007	1,130 ± 0,028
Cerveau	0,628 ± 0,0052	0,910 ± 0,016

Organes	LAPINS	
	Normal	Inanité
Carcasse.....	52,4 ± 0,59	61,2 ± 0,66
Foie	3,01 ± 0,156	1,74 ± 0,023
Intestin.....	8,99 ± 0,170	7,45 ± 0,228
Peau.....	12,4 ± 0,212	16,69 ± 0,487
Reins.....	0,538 ± 0,0137	0,700 ± 0,017
Poumon.....	0,384 ± 0,0056	0,583 ± 0,0264
Cerveau	0,390 ± 0,0086	0,568 ± 0,021

(1) Dans quelques cas nous avons lavé les animaux par la carotide, à l'aide d'une solution de chlorure de sodium à 9 p. 1.000 à 37°. Dans

Nous avons examiné quatorze Cobayes, dont huit après un jeûne prolongé, et vingt Lapins. Nous donnons, dans le tableau ci-dessus, les rapports des poids des différents organes des Cobayes et des Lapins au poids frais, avant et après le jeûne. On voit, d'après ce tableau, que la perte de poids des différents organes ne suit pas celle de l'animal total, comme l'ont d'ailleurs remarqué de nombreux auteurs depuis le mémoire classique de CHOSSAT. Mais ces variations ne nous donnent qu'une première approximation de la différence de vitesse de réduction du poids des organes par rapport au poids total. Pour pouvoir exprimer numériquement ces différences, il faudrait comparer les rapports :

$$\frac{\text{poids de l'organe de l'animal normal}}{\text{poids total de l'animal normal}}$$

et :

$$\frac{\text{poids de l'organe de l'animal inanitié}}{\text{poids total de l'animal inanitié}}$$

Cette comparaison est facilitée si le poids moyen des animaux normaux et le poids moyen avant le jeûne des animaux jeûneurs ne sont pas très différents. Le poids moyen des Cobayes normaux est de 625 grammes. Le poids moyen, avant le jeûne, des Cobayes jeûneurs est de 638 grammes, la perte de poids moyenne de $33,2 \text{ p. } 100 \pm 0,23$.

TABLEAU VI
Perte de poids relative des différents organes au cours du jeûne.

COBAYES		LAPINS	
Organes	Perte en p. 100 du poids initial de l'organe	Organes	Perte en p. 100 du poids initial de l'organe
Poids total ...	35,2	Poids total ...	34,6
Foie.	45,0	Foie.	62,2
Carcasse	32,6	Carcasse	23,7
Intestin.....	26,4	Intestin.....	45,9
Peau	18,8	Peau	12,1
Reins.....	13,7	Reins.....	14,9
Poumons.....	8,62	Poumons.....	0,78
Cerveau.....	6,05	Cerveau.....	4,90

ces cas-là la teneur en eau des organes est différente de la normale. Nous signalerons dans les tableaux d'ensemble les expériences où ces lavages furent pratiqués.

Le poids moyen des Lapins normaux est de 2.491 grammes ; il est de 2.414 grammes dans le cas des Lapins jeûneurs, avant le jeûne ; la perte de poids moyenne est de 34,6 p. 100 $\pm$ 0,8. Nous n'aurons qu'à multiplier le dernier rapport par $\frac{100 - 35,2}{100} = \frac{64,8}{100}$ dans le cas des Cobayes et, par $\frac{100 - 34,6}{100} = \frac{65,4}{100}$, dans le cas des Lapins. La différence des deux rapports divisée par le premier donne une idée de la perte relative de l'organe. On trouvera le résultat de ce calcul dans le tableau n° VI.

On y voit que, dans les deux espèces, la classification est à peu près la même. A l'exception toutefois de l'intestin dont la fonte est beaucoup plus rapide chez le Lapin que chez le Cobaye. La longueur de l'intestin adapté à la nourriture de l'animal doit en être la cause. La grande différence entre la façon de se comporter des poumons et du cerveau n'est qu'apparente. Dans le cas d'une diminution très faible au cours du jeûne, l'erreur moyenne peut être du même ordre de grandeur et rend l'affirmation d'une variation illusoire. Le pourcentage de perte du foie est, dans le cas du Lapin, beaucoup plus grand que dans le cas du Cobaye. Ce fait peut probablement être expliqué entièrement par l'abondance plus grande du glycogène dans le cas du Lapin. Nous verrons, plus loin, que le foie des Cobayes examinés par nous n'en contient, en fait, que des quantités très faibles.

B. — VARIATION DE LA COMPOSITION CHIMIQUE. — Pour ne pas étendre ce travail, nous ne donnerons les résultats de nos dosages que sous forme de tableaux d'ensemble, groupés par organe. Dans ces tableaux, sur la composition des différents organes examinés, nous rapprocherons d'abord nos données sur les tissus homologues d'espèces différentes. Nous opposerons à ces chiffres ceux obtenus sur les mêmes organes d'animaux soumis au jeûne.

a) *Eau*. — La constance en eau pour un tissu déterminé et la relation avec sa teneur en acides gras, et en cholestérine, a été faite dans les travaux bien connus de MAYER et SCHAEFFER (48). Cette teneur en eau des muscles normaux

est, chez le Chien, de $77,3 \pm 0,2$ p. 100 pour 100 grammes frais, sans graisses. Elle est, au contraire, de $80,3 \pm 0,14$ p. 100 pour 100 grammes frais, sans graisses, dans les muscles de Chiens jeûneurs. L'augmentation de la teneur en eau des muscles au cours du jeûne a été notée par plusieurs auteurs (MENDEL et ROSE sur les Lapins et les Poules, GREENE sur le Saumon, WEISKE sur les Lapins, etc.). En est-il de même dans les autres organes ?

Tandis que le foie de Lapin présente une augmentation de 75,2 à 78,8 pour 100 grammes frais, sans graisses, on constate, au contraire, une diminution dans le foie du Chien (76,7 à 75,2 p. 100). Cette diminution va de pair avec la teneur en glycogène (JUNKERSDORF). Les poumons, cerveaux, reins et intestins des Chiens voient de même leur teneur en eau augmenter dans de plus ou moins grandes proportions, au cours de l'inanition ; il n'en est pas de même dans le cas des mêmes organes du Lapin où la teneur en eau reste invariable. Nous ne savons pas à quoi attribuer cette différence de comportement des tissus des différentes espèces.

L'augmentation de la teneur en eau a comme corollaire naturel une diminution de la teneur en substance sèche autre que les graisses, c'est-à-dire en majeure partie des protides. On ne peut pas, comme l'a fait GREENE dans ses publications sur la variation de la composition des muscles de Saumon au cours du jeûne, conclure de ce fait à une perte de protides. GREENE (Ch. W.) (26) constate une augmentation de la teneur en eau de 74 à 81 pour 100 grammes frais, sans graisses, au cours du jeûne ; les protides diminuent, par rapport à cette même unité, de 20 à 14 p. 100. Un calcul simple fait, dès lors, dire à GREENE que la perte en protides est de 30 p. 100. Ceci pourrait être vrai si le poids de l'animal n'avait diminué que du poids des graisses brûlées et, dans ce cas, il y aurait eu absorption d'eau. Dans le cas d'une diminution de poids de l'animal, ce qui est probablement le cas, ce raisonnement n'est plus applicable. La seule conclusion que l'on puisse tirer des données de GREENE est que la teneur en eau n'est probablement pas uniquement conditionnée par la teneur en protides, ce que des recherches antérieures avaient déjà démontré.

b) *Phosphore lipidique*. — Dans un premier tableau (n° VII) nous avons réuni les résultats des dosages de phosphore lipidique dans la carcasse de Cobayes, avant et après le jeûne.

Malgré l'augmentation de teneur en eau des muscles et des os, constatée par tous les auteurs, nous voyons une augmentation de la concentration du phosphore lipidique. Cette augmentation peut être, en partie, due à la disparition presque complète des graisses neutres, spécialement dans la moelle osseuse (HANS ARON, A. SEDLMAIR). 17,5 pour 100 du phosphore lipidique présent dans la carcasse avant le jeûne ont disparu au cours du jeûne. Le poids ayant diminué de 32,6 p. 100. La perte de poids de l'animal total ⁽¹⁾ a été dans la même période, comme nous l'avons vu plus haut, de 35,2 p. 100. Or, la carcasse fait, chez le Cobaye, en moyenne, 48 p. 100 du poids de l'animal total ; la richesse en phosphore lipidique, pour 100 grammes frais, étant plus grande pour les autres tissus, l'on ne peut étendre le résultat obtenu à l'animal total. En faisant la somme de tous les organes examinés (y compris la peau, dont nous n'avons pas donné les chiffres puisque nous ne l'avons analysée que sur trois animaux), nous constatons une diminution de 20 p. 100 du phosphore lipidique total, par conséquent, encore beaucoup plus faible que la perte de poids total. Dans le cas des Rats entiers nous avons au contraire constaté une perte à peu près proportionnelle entre le poids total (28 p. 100) et le phosphore lipidique (30 p. 100). Le calcul fait pour Cobaye est toutefois sujet à critique. L'ensemble des organes envisagés ne fait que 77 p. 100 de l'animal total pour le Cobaye normal, et 84 p. 100 pour le Cobaye jeûneur. Les parties non comprises dans les dosages (sang, système circulatoire et glandulaire, et surtout péritoine et mésentère), sont très riches en graisses, qui disparaissent presque complètement dans quelques-unes de ces formations. Ne connaissant rien des variations de leur teneur en phosphore lipidique, il est difficile de conclure de façon formelle à une différence entre le Cobaye et le Rat — pour l'animal *entier*.

(1) Comme il ressort du tableau, nous n'avons pas analysé toutes les carcasses des animaux mis en expérience.

1^o *Les muscles.* — Le tableau n^o VIII contient l'ensemble des résultats obtenus. La teneur en phosphore lipidique des muscles d'animaux normaux, d'espèces différentes, n'est pas la même. Cette teneur est nettement différente pour les muscles de Chien et les muscles de Lapin. Les variations individuelles sont surtout importantes dans le cas des muscles de Chien. Parmi toutes les espèces examinées, le Bœuf excepté, la teneur en phosphore lipidique des muscles semble être la plus forte chez le Chien. L'ordre de grandeur des concentrations en phosphore lipidique des muscles est toutefois spécifique de ce tissu, comme nous le démontrent les analyses des organes. Dans le cas des muscles de Lapin et de Chien, on constate au cours du jeûne une diminution très nette de la teneur en phosphore lipidique pour 100 grammes frais. Cette diminution n'est qu'en partie causée par l'augmentation de l'eau de 100 grammes frais, ainsi que le prouve la diminution du phosphore lipidique de 100 grammes secs et dégraissés.

2^o *L'intestin.* — De même il semble exister une différence nette entre la teneur en phosphore lipidique des intestins de Chien et de Lapin. Au cours du jeûne, on ne constate aucune variation dans la teneur en phosphore lipidique, soit pour 100 grammes frais, soit pour 100 grammes secs et dégraissés. La teneur en phosphore lipidique de l'intestin du Cobaye est plus forte que celle de toutes les autres espèces examinées ; il semble y avoir une faible augmentation au cours du jeûne.

Pour le Chien n^o 28, nous avons séparé mécaniquement la musculieuse et la muqueuse. Les teneurs respectives en phosphore lipidique de ces deux formations sont très différentes. S'il y avait, au cours du jeûne, fonte plus ou moins rapide, soit de la musculieuse, soit de la muqueuse, on devrait trouver une différence de la teneur en phosphore lipidique de l'intestin total avant et après le jeûne.

3^o *Le foie.* — Dans le cas du foie, les écarts individuels, si l'on rapporte les résultats soit à 100 grammes frais, soit à 100 grammes secs, sont beaucoup plus importants que dans n'importe quel autre organe. Ces variations importantes peuvent être dues en grande partie à la variation de la teneur en glycogène du foie. Les différences de la teneur en azote de

la poudre extraite à l'alcool et n'ayant subi aucun autre traitement, peuvent nous renseigner sur l'importance du glycogène dans la substance sèche. Or, malgré une teneur en azote à peu près identique et de l'ordre de 15,5 pour 100 grammes secs et dégraissés, la teneur en phosphore lipidique des foies des Chiens nos 7 et 8 est fort différente. Étant donné les variations de la teneur en glycogène et les écarts individuels très accusés, une variabilité de concentration ne pourra être affirmée qu'après avoir comparé les chiffres de phosphore lipidique à d'autres composés présentant des variations identiques. Encore faut-il remarquer que, pour cet organe, les variations à l'intérieur d'une espèce sont aussi importantes que celles observées d'une espèce à l'autre.

4^o *Reins, poumons et cerveaux.* — Pour 100 grammes, frais ou secs, on constate pour une espèce donnée des variations individuelles assez importantes dans les organes, sans variations notables au cours du jeûne.

Une teneur en phosphore lipidique assez voisine pour chaque organe, dans les différentes espèces, s'observe dans les espèces étudiées.

TABLEAU VII

Teneur en phosphore lipidique de la carcasse de Cobayes avant et après le jeûne (muscles + os).

Résultats exprimés en phosphore.

Nos	PHOSPHORE LIPIDIQUE DE LA CARCASSE		Observations
	Par animal — gr.	Pour 100 grammes frais — gr	
1	0,133	0,042	animal normal. — — —
2	0,134	0,042	
3	0,137	0,043	
4	0,137	0,047	
Moyenne	0,135	0,043	
50	0,130	0,064	animal inanitié. — — — —
51	0,104	0,054	
52	0,114	0,050	
53	0,101	0,047	
57	0,109	0,053	
Moyenne	0,112	0,0536	

TABLEAU VIII

*Teneur en phosphore lipidique des muscles d'animaux
de différentes espèces à l'état normal et après un jeûne prolongé.*

Résultats en grammes de phosphore.

Nos	Espèces	PHOSPHORE LIPIDIQUE pour 100 grammes	
		Frais	Secs et dégraissés
		gr.	gr.
1	Chien normal.....	0,061	0,298
2	—	—	0,243
3	—	0,051	0,271
6	—	0,051	0,285
11	—	0,053 ⁽¹⁾	0,249
15	—	0,044	0,222
18	—	0,052	0,280
21	—	0,045	0,239
27	—	0,054	0,271
Moyenne		0,0501	0,262
7	Chiens ayant jeûné ..	0,034	0,195
8	— ..	0,038	0,211
19	— ..	0,036	0,198
31	— ..	0,041	0,236
22	— ..	0,049 ⁽²⁾	0,243
Moyenne		0,0396	0,216
20	Cobaye normal.....	0,042	0,215
1	Poule.....	0,045	0,225
1	Tanche	0,035	0,210
13	Lapin normal	0,036	0,180
11	—	0,038	0,178
10	—	0,040	0,200
15	—	0,039	0,183
12	—	0,040	0,189
17	—	0,036	0,179
Moyenne		0,038	0,185
1	Lapins ayant jeûné...	0,035	0,173
4	— ..	0,030	0,143
5	— ..	0,034	0,181
2	— ..	0,030	0,155
6	— ..	0,029	0,147
7	— ..	0,029	0,152
8	— ..	0,039	0,162
Moyenne		0,031	0,162
2	Bœuf	0,040	0,215
3	—	0,068	0,340

⁽¹⁾ Animaux lavés à l'aide d'une solution de NaCl à 9 p. 1.000.

⁽²⁾ Jeûne incomplet.

TABLEAU IX
Teneur en phosphore lipidique des intestins d'animaux de différentes espèces à l'état normal et après un jeûne prolongé.
Résultats en grammes de phosphore.

PHOSPHORE LIPIDIQUE						
Numéros	Espèces	Par animal	Pour 100 grammes			Observations
			Frais	Secs et dégraissés		
				gr.	gr.	
7	Chiens ayant jeûné	0,121	0,034	0,346		
8	—	0,122	0,036	0,393		
28	—	0,153	0,042	0,321		
28	—	0,098	0,054	0,570		Muqueuse intestinale.
28	—	0,055	0,030	0,180		Musculaire intestinale.
5	Chien normal.....	0,244	0,034	0,343		
10	Lapins normaux	0,088	0,051	0,485		
12	—	0,086	0,052	0,516		
13	—	0,134	0,062	0,540		
15	—	0,129	0,055	0,465		
17	—	0,091	0,053	0,495		
18	—	0,100	0,052	0,447		
Moyenne			0,054			

TABLEAU IX (suite).
Teneur en phosphore lipidique des intestins d'animaux de différentes espèces à l'état normal et après un jeûne prolongé,
Résultats en grammes de phosphore.

Numéros	Espèces	Par animal	PHOSPHORE LIPIDIQUE Pour 100 grammes			Observations
			Frais	Secs et dégraisés		
		gr.	gr.	gr.		
1	Lapins ayant jeûné.....	0,043	0,054	0,460		
2	—	0,057	0,055	0,475		
4	—	0,066	0,042	0,480		
5	—	0,059	0,056	0,525		
7	—	0,074	0,056	0,535		
9	—	0,055	0,052	0,419		
30	—	0,063	0,048	0,411		
32	—	0,071	0,058	0,476		
Moyenne			0,0526			
1	Cobayes normaux	0,025	0,069	0,620		Dosage effectué sur les intestins prov. de 6 animaux.
50	Cobayes ayant jeûné	0,022	0,081	0,685		Dosage effectué sur les intestins provenant de 8 animaux.

TABLEAU X

Teneur en phosphore lipidique du foie d'animaux de différentes espèces à l'état normal et après un jeûne prolongé.

Résultats en grammes de phosphore.

Numéros +	Espèces	Par animal	Pour 100 grammes		Observations
			Frais gr.	Secs et dégraissés gr.	
5	Chiens normaux.....	0,351	0,116 (1)	0,551	Dosage effectué sur 5 foies.
11	—	0,276	0,126	0,586	
20	—	0,459	0,107		
21	—	0,190	0,132		
7	Chiens ayant jeûné	0,186	0,141	0,588	
8	—	0,235	0,179	0,885	Dosage effectué sur 4 foies.
31	—	0,300	0,165	0,695	
10	Lapins normaux	0,078	0,169	0,855	
16	—	0,127	0,127	0,540	
17	—	0,090	0,125	0,569	
18	—	0,104	0,086	0,377	Dosage effectué sur 3 foies.
1	Lapins ayant jeûné.....	0,045	0,167	0,945	
7	—	0,039	0,170	0,874	
30	—	0,040	0,136	0,715	
32	—	0,071	0,182	0,942	
1	Cobayes normaux	0,030	0,115	0,620	Dosage effectué sur 8 foies.
4	—	0,029	0,117	0,730	
50	Cobayes ayant jeûné	0,021	0,164	0,745	

(1) Animaux lavés par la carotide à l'aide d'une solution de NaCl à 9 p. 1000.

TABLEAU XI

Teneur en phosphore lipidique de cerveaux d'animaux de différentes espèces à l'état normal et après un jeûne prolongé.

Résultats en grammes de phosphore.

PHOSPHORE LIPIDIQUE					
Numéros	Espèces	Par animal	Pour 100 grammes		Observations
			Frais	Secs et dégraissés	
		gr.	gr.	gr.	
11	Chiens normaux.....	0,129	0,264 (1)	2,550	
17	—.....	0,140	0,216	2,190	
20	—.....	0,161	0,226	2,040	
7	Chiens ayant jeûné.....	0,167	0,226	2,270	
8	—.....	0,136	0,221	2,470	
31	—.....	0,179	0,249	2,665	
10	Lapins normaux.....	0,015	0,182	2,250	Dosage fait sur 6 cerveaux.
17	—.....	0,021	0,235	2,350	— 3 —
1	Lapins jeûneurs.....	0,024	0,258	2,540	Dosage fait sur 4 cerveaux.
30	—.....	0,020	0,229	2,280	— 3 —
1	Cobayes normaux.....	0,009	0,230	2,150	Dosage fait sur 3 cerveaux.
4	—.....	0,010	0,250	2,280	— 3 —
50	Cobayes ayant jeûné.....	0,008	0,206	1,950	Dosage fait sur 8 cerveaux.

(1) Animaux lavés à l'aide d'une solution de NaCl à 9 p. 1.000.

TABLEAU XII

Teneur en phosphore lipidique de poumons d'animaux de différentes espèces à l'état normal et après un jeûne prolongé.
Résultats en grammes de phosphore.

Numéros	Espèces	Par animal	PHOSPHORE LIPIDIQUE		Observations
			Pour 100 grammes		
			Frais	Secs et dégraissés	
		gr.	gr.	gr.	
17	Chiens normaux.....	0,061	0,070	0,425	
20	—	0,158	0,088	0,505	
7	Chiens ayant jeûné	0,079	0,095	0,692	
8	—	0,061	0,102	0,732	
31	—	0,086	0,088	0,524	
10	Lapins normaux	0,009	0,113	0,840	Dosage effectué sur les poumons de 6 animaux.
17	—	0,010	0,105	0,728	Dosage effectué sur les poumons de 3 animaux.
1	Lapins ayant jeûné.....	0,010	0,112	0,815	Dosage effectué sur les poumons de 4 animaux.
30	—	0,012	0,104	0,630	Dosage effectué sur les poumons de 3 animaux.
1	Cobayes normaux	0,0056	0,112		Dosage effectué sur les poumons de 3 animaux.
4	—	0,0056	0,113		Dosage effectué sur les poumons de 3 animaux.
50	Cobayes ayant jeûné	0,0049	0,104		Dosage effectué sur les poumons de 8 animaux.

TABLEAU XIII

Teneur en phosphore lipidique de reins d'animaux de différentes espèces à l'état normal et après un jeûne prolongé.

Résultats en grammes de phosphore.

Numéros	Espèces	PHOSPHORE LIPIDIQUE				Observations
		Par animal	Pour 100 grammes			
			Frais	Secs et dégraissés		
		gr.	gr.	gr.		
207	Chiens normaux.....	0,079	0,117	0,635		
11	—	0,035	0,094 (1)	0,765		
5	—	0,053	0,095 (1)	0,630		
17	—	0,040	0,113	0,695		
20	—	0,094	0,123	0,648		
7	Chiens ayant jeûné.....	0,042	0,088	0,765		
8	—	0,033	0,100	0,770		
31	—	0,054	0,112	0,712		
10	Lapins normaux	0,015	0,124	0,847	Dosage effectué sur des reins de 5 animaux.	
17	—	0,0125	0,123	0,710	Dosage effectué sur des reins de 3 animaux.	
1	Lapins jeûneurs	0,0138	0,122	0,892	Dosage effectué sur des reins de 4 animaux.	
30	—	0,014	0,125		Dosage effectué sur des reins de 3 animaux.	

⁽¹⁾ Animaux lavés par la carotide à l'aide d'une solution de NaCl à 9 p. 1.000.

c) *Lipides totaux.* — Nous avons déterminé sur la liqueur benzénique, en dehors du phosphore lipidique, les lipides totaux. Nous ne donnerons pas tous les chiffres obtenus. On sait que les variations de la teneur en lipides totaux, de certains organes, peuvent être très importantes pour des animaux qui se trouvent dans des conditions de nutrition identiques. Le rapport du phosphore lipidique et des lipides totaux est loin d'être constant pour certains organes tels : le foie, les muscles et l'intestin. Le jeûne ne change pas le rapport dans le cas du foie de Chien, ainsi que le montre le tableau ci-dessous.

TABLEAU XIV

Rapport $\frac{\text{phosphore lipidique}}{\text{lipides totaux}}$ dans le foie de Chien
à l'état normal et après un jeûne prolongé.

N ^{os}	Rapport :	Observations
	$\frac{\text{phosphore lipidique}}{\text{lipides totaux}}$	
5	1,50	chien normal.
11	2,83	—
20	2,24	—
21	2,38	—
7	2,56	chien inanitié.
8	1,86	—
31	2,08	—

Les variations de ce rapport, déjà très fortes, deviennent beaucoup plus importantes en rapportant le phosphore lipidique, non aux lipides totaux, mais aux lipides totaux moins les phosphatides (¹). JUNKERSDORF (42) avait noté que les variations de la teneur en lipides totaux dans le foie de Chien sont en sens inverse de celles du glycogène ; dans le cas du foie de Lapin, la disparition des graisses neutres est plus rapide que celle du phosphore lipidique. Il en est de même pour l'intestin de Lapin.

Dans les reins de Chien, il peut y avoir, au contraire, augmen-

(¹) Nous ne donnons pas ce calcul qui est trop arbitraire ; on sait, en effet, que la composition de la lécithine dans les organes est loin d'être très fixe.

tation de la teneur en lipides totaux par rapport au phosphore lipidique.

d) *Azote extractif benzénique*. — Une troisième détermination d'azote total est faite sur la solution benzénique. Dans ce cas encore nous ne donnerons pas le détail de nos résultats. Nous ne pouvons pas nous servir de ce chiffre pour déterminer la composition de la lécithine. Il faudrait, pour cela, purifier cette dernière par une ou plusieurs précipitations acétoniques. Notons, toutefois, que le rapport du phosphore lipidique à l'azote de l'extrait benzénique est assez constant. Sa valeur oscille dans la plupart des cas entre 1,0 et 1,2 ; dans le seul cas de l'intestin du Lapin jeûneur, le rapport atteint 1,5.

e) *Azote extractif hydrosoluble*. — De même, nous ne rapporterons pas les chiffres d'azote extractif hydrosoluble de l'extrait alcoolique. Cet azote a été déterminé par un grand nombre d'auteurs qui y ont dosé, séparément : l'urée, l'ammoniaque, l'azote aminé et la créatine. On connaît les discussions soulevées par la signification à donner aux acides aminés présents dans cette fraction azotée. Nous aurons l'occasion d'y revenir quand nous discuterons les modifications que subit la molécule protidique au cours du jeûne.

Les chiffres du dosage de phosphore effectué sur cette partie de l'extrait alcoolique ne figurent pas isolément dans nos tableaux. Nous les avons utilisés pour faire la somme du phosphore total.

f) *Phosphore total*. — Sur la poudre dégraissée et séchée des protides des tissus, nous avons dosé le phosphore total, somme de différentes formes de phosphore. Nous ne donnons pas les chiffres de ces dosages ; mais nous indiquerons, par contre, le phosphore total qui représente la somme de trois formes de phosphore dosées séparément :

- 1° Le phosphore lipidique ;
- 2° Le phosphore extractif hydrosoluble ;
- 3° Le phosphore des protides dégraissés.

Chaque élément composant de la somme a été dosé en double et nous n'avons utilisé la moyenne que dans le cas où les deux dosages ne différaient pas de plus de 2 p. 100. ; l'importance relative de ces trois formes est très différente. Dans la

majeure partie des cas, seul le phosphore lipidique et le phosphore du précipité de protides sont importants. Enfin, notre manière de procéder nous permet d'avoir des chiffres obtenus sur un matériel complètement homogène ⁽¹⁾ et non sur une partie aliquote pouvant avoir une composition particulière.

On trouvera dans un mémoire antérieur la teneur en phosphore total des muscles de Chien (11). Rappelons seulement qu'elle est assez constante pour le Chien normal. Au cours du jeûne, au contraire, il y a une diminution notable. Les moyennes sont les suivantes :

Phosphore total du muscle de Chiens.

	Pour 100 grammes frais	Pour 100 grammes secs et dégraissés
Animal normal.....	0,229	1,068
Animal inanitié.....	0,162	0,875

Nous donnons, ci-après, nos chiffres obtenus sur les muscles d'autres animaux; puis suivront les résultats recueillis sur les différents organes.

TABLEAU XV

*Teneur en phosphore total du tissu musculaire d'animaux
de différentes espèces.*

Résultats en grammes de phosphore.

N ^{os}	Espèces	PHOSPHORE TOTAL pour 100 grammes		Observations
		Frais	Secs et dégraissés	
10	Lapin	0,247	1,160	Animal normal.
12	—	0,257	1,149	—
14	—	0,246	1,083	—
15	—	0,250	1,148	—
1	Lapin	0,220	1,089	Animal inanitié.
2	—	0,218	1,128	—
4	—	0,238	1,138	—
5	—	0,215	1,141	—
3	Bœuf	0,229	1,093	Animal normal.
1	Poule.....	0,207	0,991	—

(1) Dans le cas des organes nous avons toujours opéré sur l'ensemble; les prises de tissu musculaire étaient en moyenne de 200 grammes, poids suffisant pour nous mettre à l'abri d'erreurs provenant d'une non homogénéité.

TABLEAU XVI

Phosphore total de l'intestin d'animaux de différentes espèces à l'état normal et après un jeûne prolongé.

Résultats en grammes de phosphore.

N ^{os}	Espèces	PHOSPHORE TOTAL		Observations
		Par animal	Pour 100 grammes secs et dégraissés	
1	Chien normal.	0,974	1,202	
7	Chiens ayant jeûné	0,404	1,158	
8	—	0,476	1,526	
28	—	0,482	1,010	
28	—	0,302	1,754	Muqueuse intest.
31	—	0,424	2,365	—
28	—	0,180	0,589	Musculaire intest.
10	Lapin normal	0,332	1,841	
15	—	0,473	1,682	
17	—	0,343	1,860	
2	Lapins jeûneurs ..	0,202	1,680	
4	— ..	0,263	1,908	
9	— ..	0,187		
30	— ..	0,236	1,528	
1	Cobayes normaux..	0,063	1,716	Dosage effectué sur les intestins provenant de 3 animaux.
50	Cob. ayant jeûné..	0,055	1,770	Dosage effectué sur les intestins provenant de 8 animaux.

TABLEAU XVII

Teneur en phosphore total de foies d'animaux de différentes espèces à l'état normal et après un jeûne prolongé.

Résultats en grammes de phosphore.

N ^{os}	Espèces	PHOSPHORE TOTAL		Observations
		Par animal	Pour 100 grammes secs et dégraissés	
5	Chiens normaux...	0,921	1,452	
11	— ..	0,590	1,266	
7	Chiens ayant jeûné	0,473	1,690	
8	—	0,472	1,780	
31	—	0,616	1,520	
10	Lapins normaux ..	0,165	1,799	Dosages effectués sur les foies provenant de 4 animaux.
17	— ..	0,246	1,458	<i>id</i> de 3 animaux.
1	Lapins ayant jeûné	0,087	1,840	Dosages effectués sur les foies provenant de 4 animaux.
32	—	0,129	1,715	<i>id</i> de 3 animaux.
6	—	0,092		
1	Cobayes normaux..	0,062	1,426	Dosages effectués sur les foies provenant de 6 animaux.
50	Cob. ayant jeûné..	0,048	1,711	Dosages effectués sur les foies provenant de 8 animaux.

La teneur en phosphore total des muscles des différentes espèces est à très peu près la même. Les chiffres obtenus sur le muscle de Lapin sont toutefois supérieurs à ceux des autres espèces, y compris le Chien. De plus, le muscle de Lapin ne présente qu'une diminution très faible au cours du jeûne, contrairement à ce que nous avons vu chez le Chien. La teneur en phosphore total de l'intestin de Chien, soit normal, soit après un jeûne, est inférieure à celle du Lapin

et du Cobaye. La constance, dans une espèce pour 100 grammes secs et dégraissés, n'est pas suffisante pour affirmer une variation de ce pourcentage au cours du jeûne. La différence de la teneur en phosphore total de la musculuse et de la muqueuse intestinales est très grande. Les deux chiffres obtenus sur la muqueuse de deux Chiens ayant jeûné sont également très différents.

L'augmentation pour 100 grammes secs et dégraissés de foie de Chien, au cours du jeûne, provient de la diminution notable de la teneur en glycogène de cet organe.

Nous voyons que le phosphore total, pour 100 grammes secs et dégraissés, ne présente pas de très grandes variations pour les différents tissus. Cette teneur est d'environ 1 p. 100 dans le cas du muscle et du poumon ; elle est de 1,5 à 1,8 p. 100 pour les autres tissus, exception faite du cerveau, dont la forte teneur en phosphore lipidique fait augmenter la concentration à 3,5 p. 100.

TABLEAU XVIII

Teneur en phosphore total de différents organes de Chiens et Lapins.

Résultats en grammes de phosphore.

N ^o	Espèces	Organes	PHOSPHORE TOTAL		Observations
			Par animal	Pour 100 grammes secs et dégraissés	
17	Chien....	Poumons.	0,132	0,923	Normal.
31	—	— . .	0,168	1,021	Inanitié.
16	Lapin ..	— .	0,027		Normal.
6	— ..	— .	0,017		Inanitié.
9	— ..	— .	0,024		—
11	Chien....	Reins....	0,088	1,439	Normal.
20	— ...	—	0,197	1,353	—
16	Lapin ..	—	0,029		—
17	— ...	—	0,028	1,599	—
6	— ...	—	0,025		Inanitié.
9	— ...	—	0,013		—
31	Chien....	Cerveau..	0,291	3,528	Inanitié.

g) *Phosphore nucléaire.* — Trouvons-nous, au contraire, en dehors du phosphore lipidique des composés phosphorés

qui présentent de grandes variations et dont la teneur soit caractéristique de l'organe?

Nous avons dosé, dans les différents organes, le phosphore nucléique, d'après la méthode de PLIMMER et SCOTT. Nous donnons, dans les tableaux qui suivent, les résultats de nos dosages.

TABLEAU XIX

*Teneur en phosphore nucléique et valeurs des rapports
phosphore nucléique et phosphore lipidique des muscles d'espèces
phosphore total phosphore total
différentes à l'état normal et après un jeûne prolongé.*

Nos	Espèces	Phosphore nucléique pour 100 grammes secs et dégraissés en gr. de phosphore	Phosphore nucléique phosphore total	Phosphore lipidique phosphore total
10	Lapins normaux .	0,146	0,126	0,173
15	— .	0,148	0,129	0,160
14	— .	0,143	0,132	
12	— .			0,165
1	Lapins ayant jeûné	0,118	0,109	0,159
4	—	0,121	0,106	0,125
2	—	0,146	0,129	0,137
5	—			0,158
1	Chiens normaux...	0,139	0,112	0,243
15	—	0,089	0,091	0,226
14	—	0,085		
18	—	0,095	0,089	0,260
3	—			0,261
6	—			0,269
27	—			0,259
19	Chiens ayant jeûné	0,085	0,111	0,268
8	—	0,120	0,133	0,234
24	—	0,070	0,102	
7	—	0,157	0,174	0,216
22	—			0,262
1	Bœuf	0,137		
3	—			0,310
1	Poule.....	0,093	0,094	0,227

TABLEAU XX

*Teneur en phosphore nucléique et valeurs des rapports
phosphore nucléique et phosphore lipidique de l'intestin d'animaux
phosphore total et phosphore total
d'espèces différentes à l'état normal et après un jeûne prolongé.*

N ^{os}	Espèces	Phosph. nucl. pour 100 grammes sec et dégraissés en gr. de phosph.	Phosph. nucl. phosph. total	Phosph. lipid. phosph. total	Remarques
5	Chien normal.	0,370	0,308	0,286	
7	Chien ayant jeûné.	0,496	0,428	0,299	
8				0,258	
21	—	0,336	0,142		Muqueuse.
28	—			0,318	—
28	—	0,168	0,286	0,306	Muscul.
10	Lapin normal ...	0,676	0,368	0,263	
15	—	0,660	0,392	0,276	
17	—			0,266	
2	Lapin ayant jeûné	0,605	0,360	0,283	
4	—	0,616	0,323	0,252	
30	—			0,270	
50	Cob. ayant jeûné..	0,609	0,344	0,387	Dosage ef- fectué sur 8 intest.

TABLEAU XXI

*Teneur en phosphore nucléique et valeurs des rapports
phosphore nucléique et phosphore lipidique
phosphore total et phosphore total de foies d'animaux
de différentes espèces à l'état normal et après un jeûne prolongé.*

N ^{os}	Espèces	Phosph. nucl. pour 100 grammes secs et dégraissés en gr. de phosph.	Phosph. nucl. phosph. total	Phosph. lipid. phosph. total	Remarques
5	Chiens normaux...	0,311	0,215	0,380	
11	—			0,470	
7	Chiens ayant jeûné	0,511	0,288	0,348	
8	—			0,496	
31	—	0,459	0,302	0,456	
10	Lapins normaux ..	0,462	0,256	0,475	Dosage ef-
15	—	0,316			fectué
17	—	0,310	0,213	0,388	sur 4 foies.
1	Lap. ayant jeûné.	0,484	0,263	0,514	Dosage ef-
32	—	0,411	0,240	0,550	fectué
1	Cobayes normaux	0,418	0,293		sur 4 foies.
50	Cob. ayant jeûné.	0,470	0,274		Dosage
					effectué
					sur 6 foies.
					Dosage ef-
					fectué
					sur 8 foies.

Pour 100 grammes secs et dégraissés, il y a une diminution du phosphore nucléique au cours du jeûne dans les muscles de Lapin. Dans une note antérieure, nous avons, en nous basant sur quatre dosages de muscles de Lapins, admis une forte augmentation de la teneur en phosphore nucléique pour 100 grammes secs et dégraissés, au cours du jeûne. Les muscles de ces animaux avaient été préparés selon la méthode de JANNEY. Les teneurs des muscles jeûneurs étaient du même ordre de grandeur (0,133) que ceux que nous publions ci-dessus, tandis que celles obtenues sur les muscles normaux étaient sensiblement plus faibles. Nous ne pouvons incriminer une erreur dans les dosages du phosphore, ceux-ci étant toujours faits en double ; nous croyons plutôt que cette différence est due à une purification défectueuse. C'est la complication de la méthode de JEANNEY qui nous a amenés à l'abandonner. Nous reviendrons, plus tard, sur les erreurs que l'on peut commettre avec cette méthode. Les chiffres de phosphore nucléique chez le Chien sont plus faibles que ceux obtenus sur le Lapin. Les variations de la teneur en phosphore nucléique pour 100 grammes secs et dégraissés, dans les muscles de Chien ayant jeûné, ne permettent pas de comparer ces résultats à ceux obtenus sur les muscles d'animaux normaux. L'ensemble des résultats obtenus sur le muscle indique une teneur en phosphore nucléique assez semblable pour toutes les espèces envisagées. Le rapport $\frac{\text{phosphore nucléique}}{\text{phosphore total}}$ est assez constant dans les muscles de Lapin ; il diminue dans quelques cas au cours du jeûne. On constate, au contraire, une augmentation de ce rapport dans certains muscles d'animaux soumis au jeûne ; elle est probablement fonction de l'intensité de la fonte du tissu musculaire, comme nous l'ont montré nos études sur le muscle atrophie. En grande partie, l'augmentation est due à une disparition, au cours du jeûne, des composés phosphorés autres que le phosphore lipidique et le phosphore nucléique.

La diminution du rapport $\frac{\text{phosphore lipidique}}{\text{phosphore total}}$ au cours du jeûne, dans les muscles de Lapin, est causée par la diminution du phosphore lipidique dans ces mêmes muscles, comme nous

l'avons signalé plus haut. Il en est de même pour les muscles de Chien. L'ordre de grandeur de ce dernier rapport, pour les muscles des différentes espèces, varie avec leur teneur en phosphore lipidique, leur teneur en phosphore total étant à peu près constante.

Pour toute la bibliographie de cette question, nous renvoyons à une revue critique que nous avons publiée antérieurement (10).

La teneur en phosphore nucléique de l'intestin de Chien et le rapport $\frac{\text{phosphore nucléique}}{\text{phosphore total}}$ semblent pouvoir varier dans des limites assez étendues. Il n'en est pas de même dans le cas de l'intestin de Lapin et de Cobaye dont la teneur en phosphore nucléique est à peu près la même. Il y a diminution de cette teneur au cours du jeûne dans l'intestin de Lapin, le rapport restant à peu près constant. La teneur en phosphore nucléique de la muqueuse intestinale est beaucoup plus importante que celle de la musculuse. Cette dernière se rapproche fortement de la concentration qu'on trouve dans les muscles striés. La richesse en noyaux des cellules constituant la muqueuse permettait de prévoir cette différence.

Le rapport $\frac{\text{phosphore lipidique}}{\text{phosphore total}}$ est grossièrement constant pour l'intestin de Chien et de Lapin. Il semble n'y avoir aucune variation au cours du jeûne. Ce même rapport est plus élevé dans le cas de l'intestin de Cobaye. Malgré des différences accusées entre la teneur en phosphore lipidique de la musculuse et la muqueuse intestinales, ce rapport est du même ordre de grandeur pour les deux formations. Il ne diffère pas du rapport obtenu pour l'intestin total.

Dans le foie de tous les animaux, on constate une augmentation de la teneur en phosphore nucléique au cours de l'inanition. Cette augmentation est très variable mais reste apparente si on rapporte le phosphore nucléique à l'azote total.

En employant la méthode de JEANNEY, décrite plus loin lors du dosage des composés azotés, nous avons fait confiance à cet auteur et admis que la poudre obtenue après précipitation et extraction acétique était exempte de glycogène : nous

nous sommes crus autorisés à tirer des conclusions quant à la teneur en azote de ces poudres, ainsi que le fit d'ailleurs l'auteur lui-même. Constatant une différence sensible de la teneur en azote et en phosphore nucléique sur les poudres de foie avant et après le jeûne, nous n'avons pas hésité à interpréter ces variations comme tendant à prouver l'existence de protides de réserve ayant une teneur en azote très faible. Nous nous sommes ultérieurement rappelé les travaux de PFLUGER, qui, en voulant doser le glycogène dans le foie, mentionnait les difficultés considérables rencontrées pour extraire quantitativement ce composé, et nous avons eu des doutes sur l'infailibilité de la méthode de JEANNEY. Nous avons repris les poudres examinées et en avons dosé le glycogène d'après la méthode de PFLUGER, le sucre obtenu après hydrolyse étant déterminé par la méthode de FONTES et THIVOLLE. Nos poudres de foies normaux, malgré des extractions répétées dans l'acide acétique dilué, contenaient encore des quantités importantes de glycogène. Correction faite du glycogène, la teneur en azote de ces poudres augmentait fortement mais restait encore nettement inférieure à celle des poudres de foie d'animaux inanitiés; ces dernières ne contenaient plus que quelques grammes de glycogène pour 100 grammes secs et dégraissés.

On le voit, les faits constatés concernant la teneur en azote des protides du foie normal et du foie des jeûneurs ne sont pas susceptibles de montrer si des albumines de réserve existent dans cet organe. Pour les mettre en évidence, nous pouvons faire état d'autres données expérimentales empruntées aux variations du rapport
$$\frac{\text{phosphore nucléique}}{\text{azote total}}$$

Il est important de remarquer que la valeur de ce rapport augmente toujours dans le jeûne prolongé, ainsi que le montre le tableau XXII. Chez le chien, il passe de 22,6 à 33; chez le lapin, de 27 à 33,5; chez le cobaye, de 28 à 30. L'augmentation est d'autant plus forte que l'espèce considérée est de taille plus grande. Tout se passe donc comme si les échanges proportionnellement plus élevés, qui se font chez les animaux de petite taille, ne permettaient pas l'accumulation de protides de réserve dans le foie.

TABLEAU XXII

Variations du rapport $\frac{\text{phosphore nucléique}}{\text{azote des protides}}$ dans le foie de différentes espèces à l'état normal et après un jeûne prolongé.

N°	Espèces	Rapport :	
		Phosphore nucléique	Observation
		azote des protides	
5	Chien.....	22,6	Normal.
8	—	33,0	Inanitié.
31	—	33,0	—
10	Lapin	29,60	Normal.
15	—	25,20	—
17	—	24,40	—
1	Lapin	35,0	Inanitié.
32	—	32,0	—
1	Cobaye	28,4	Normal.
50	—	30,2	Inanitié.

TABLEAU XXIII

Teneur en phosphore nucléique et valeurs des rapports $\frac{\text{phosphore nucléique}}{\text{phosphore total}}$ et $\frac{\text{phosphore lipidique}}{\text{phosphore total}}$ de reins et poumons d'animaux normaux et jeûneurs.

N°	Organe	Espèce	Phosph. nucl.	Phosph. nucl.	Phosph. lipid.	Remarques
			pour 100 gr. secs et dégraissés en gr. de phosph.	phosph. total	Phosph. total	
11	Reins....	Chien	0,329	0,228	0,532	Normal.
20	— ..	—			0,480	—
17	Reins....	Lapin	0,407	0,254		—
17	Poumon	Chien	0,267	0,290	0,460	—
31	—	—			0,514	Jeûneur.

Les rapports $\frac{\text{phosphore nucléique}}{\text{phosphore total}}$ sont du même ordre de grandeur pour tous les intestins. Il semble n'y avoir aucune variation systématique au cours du jeûne.

Les rapports $\frac{\text{phosphore lipidique}}{\text{phosphore total}}$ n'ont pas de valeur fixe.

TROISIÈME PARTIE

Étude des protides des tissus à l'état normal et dans le jeûne. — Le métabolisme de l'azote et les protides de réserve (Vorratseiweiss)

Les raisons qui nous ont conduits à rechercher s'il existait des modifications dans la composition des protides constituant des tissus au cours de l'atrophie musculaire, du développement embryonnaire ou du jeûne, peuvent être assez facilement rassemblées ; elles découlent de problèmes qui sont, à la fois, d'ordre physiologique et d'ordre biochimique.

Si imparfaites que soient les méthodes de dosage des acides aminés actuellement existantes, elles n'en ont pas moins permis d'établir, avec certitude, les différences profondes qui séparent la constitution moléculaire des divers protides. Par ailleurs, le nombre colossal de protides isomères dont on peut prévoir la formation possible à partir d'un nombre restreint d'acides aminés, semble avoir découragé les chercheurs soucieux de caractériser les protides par la proportion des divers acides aminés qu'ils contiennent. C'est, peut-être, ce qui explique pourquoi l'on trouve si peu de données sur la constitution des albumines des tissus des homéothermes. En dépit de cette pénurie de documents, les biologistes ne semblent pas avoir jamais douté de la différence de constitution des protides constituant les organes glandulaires des mammifères supérieurs par exemple, ou même de la nature différente des protides appartenant à des organes homologues dans cette même catégorie d'animaux. A défaut de preuves biochimiques, il faut chercher l'origine de cette conviction dans des arguments

empruntés à la science de l'immunité et notamment à l'étude des précipitines et cytotoxines.

On est pourtant surpris, quand on consulte les ouvrages classiques de chimie biologique ou même les traités spéciaux consacrés à la chimie des protides, de voir qu'à l'heure actuelle, si on voulait se baser exclusivement sur les données numériques dont on dispose, il serait impossible de répondre avec certitude en s'appuyant sur des analyses exprimant la teneur en acides aminés des matières protéiques étudiées à ce jour, aux questions suivantes :

1^o Dans des espèces voisines, les protides des tissus homologues sont-ils du point de vue de leur composition en aminoacides identiques ou différents ?

2^o N'y a-t-il dans les muscles, les organes glandulaires, le tissu nerveux, qu'un seul protide ou des protides différents, dont chacun serait l'expression d'une formation histologique distincte, là où le microscope nous révèle plusieurs types d'éléments cellulaires différenciés dans un même organe ? Les proportions de ces divers protides peuvent-elles varier dans les divers états physiologiques ou pathologiques ? (1)

3^o Dans un même organisme, les muscles et divers organes parenchymateux sont-ils constitués par un protide unique ou des protides chimiquement apparentés ou totalement différents ?

Beaucoup d'auteurs admettent, à la suite d'ABDERHALDEN, qu'il existe des protides différents dans un même organe, mais les données numériques manquent pour appuyer cette affirmation.

L'intérêt physiologique des questions ainsi posées est évident. Nous avons vu quels renseignements nous apportaient l'étude du développement embryonnaire du Poulet et celle de l'atrophie musculaire. Mais le cas du jeûne doit mériter, lui aussi, un examen spécial. Nous savons, depuis CHOSSAT et depuis VOLT, que les divers organes perdent de poids avec des vitesses extrêmement différentes au cours de la privation totale d'aliments, les uns, comme le tissu lym-

(1) Réserves faites de formations spéciales : histones, scléroprotéines, etc.

phoïde, étant frappés dès le début du jeûne d'une façon presque élective, tandis que d'autres perdent, même dans un jeûne poussé jusqu'à la mort, à peine quelques grammes pour cent. Cette constatation prend, pour nous, un intérêt considérable, si nous faisons l'hypothèse suivante : les tissus qui disparaissent le plus vite et pour la plus forte proportion dans le jeûne, sont ceux qui contiennent la quantité la plus grande des acides aminés indispensables, nécessaires au fonctionnement de l'organisme pour le maintien de l'équilibre physiologique.

Que doit-on entendre par acides aminés qualitativement indispensables ? Parmi ces constituants de la molécule albuminoïde, les uns peuvent être facilement synthétisés par l'organisme, dans l'équilibre comme dans la croissance (alanine, glycocole, etc...), tandis que d'autres, indispensables au métabolisme cellulaire pour des raisons que nous ne savons pas encore préciser, doivent être à tout moment introduits de l'extérieur.

Il est facile de comprendre pourquoi, durant la croissance, leur suppression, totale ou partielle, peut jouer le rôle de facteur limitatif, lorsque s'édifient les molécules de protides constituants des tissus. L'absence d'une ou deux pierres suffit pour que la construction de l'édifice entier soit impossible. Chez l'adulte, si ces aminoacides doivent être journalièrement introduits avec la ration, dans des proportions définies, c'est qu'ils sont utilisés pour des fins physiologiques, et ne peuvent être ni synthétisés, ni empruntés aux protides constitutifs des tissus de l'organisme d'une façon indéfinie.

Si certains acides aminés ne peuvent être synthétisés par les animaux supérieurs, il en faut évidemment chercher la raison dans des faits d'ordre thermochimique ; les réactions couplées, qui fournissent l'énergie nécessaire à la formation de ces aminoacides, ne peuvent être réalisées que chez certains êtres autotrophes (bactéries) ou, chez les végétaux, par voie photochimique. Mais ce n'est pas là l'ordre de problèmes que nous prendrons ici en considération. Ce que nous voudrions savoir, c'est pourquoi le jeûneur ou l'animal privé de tryptophane meurent lorsqu'ils ont perdu 30 p. 100 de leur poids, alors que leurs muscles ou leurs organes glandulaires pourraient encore,

semble-t-il, subir des réductions de poids considérables, et contiennent encore certainement, à l'état combiné, des quantités importantes de ces molécules complexes indispensables à la vie. La destruction des organes obéirait-elle à une sorte de « Law of minimum » (OSBORNE et MENDEL) à rebours, qui conditionnerait l'hydrolyse préférentielle de tel ou tel protide des organes ?

Une telle question, comme les corollaires qu'elle soulève, n'a pas reçu, à l'heure actuelle, la moindre ébauche de solution ; elle nous conduit à examiner, comme lui étant étroitement apparenté, l'important problème soulevé, il y a longtemps, par MAC COLLUM, à propos de ses recherches sur l'entretien et la croissance chez le Porc, problème qui se pose encore aujourd'hui dans les termes mêmes où G. SCHAEFFER (76) le posait en 1918.

On admet classiquement que, sous l'influence successive des divers ferments protéolytiques, les protides alimentaires sont totalement scindés dans le tube digestif en leurs acides aminés constitutifs. Dans quel but ? C'est, nous dit-on, pour parer à l'inéluctable besoin d'azote de l'organisme ; après la traversée de la barrière intestinale, les acides aminés mis en liberté par la digestion devront parer à « l'usure des tissus ». Si la distinction entre acides aminés indispensables et non indispensables à un sens, il faut alors admettre que « l'usure » invoquée ne peut porter que sur les acides aminés indispensables, et que la digestion intestinale des protides ne doit avoir pour but que de mettre à la disposition de l'organisme les quantités nécessaires de ces aminoacides qualitativement indispensables et dont il ne peut faire la synthèse. Mais là où il y a eu *usure des tissus*, faut-il admettre qu'elle comporte la dislocation d'une molécule protidique entière ? La restitution du tissu ne pourrait se faire, dans ce cas, que par une régénération totale à partir des acides aminés apportés, par le sang, de la molécule détruite, sur un mode qualitatif et quantitatif spécifique de l'organe et de l'animal considéré.

A cette conception classique, implicitement admise par tous les auteurs, MAC COLLUM en oppose une autre. Ne pourrait-on admettre que l'usure de la matière protéique dans les tissus correspond *en fait*, non pas à tous les constituants, mais

à certains acides aminés seulement qui, engagés dans des réactions se passant d'une façon ininterrompue au cours du métabolisme, tendraient à disparaître et devraient être constamment renouvelés? La constitution de l'édifice que constitue la molécule protidique serait telle que la réduction de pourcentage d'un de ces aminoacides n'entraînerait pas une dislocation totale, la restitution se ferait par *réparation*. Dans cette hypothèse, la dégradation totale des protides alimentaires dans l'intestin prend un tout autre sens ; elle n'a pour but que de mettre à la disposition de l'organisme les petites quantités d'acides aminés dont il a besoin, la désamination et la combustion des autres constituant un véritable phénomène de gaspillage (glycocolle, alanine, valine, leucine).

Mais, pour admettre cette hypothèse d'ordre biochimique, il va falloir, maintenant, en faire une autre, qui est du domaine de la physicochimie ; elle touche la représentation même que l'on doit se faire de la molécule des protides.

Pour que la réduction procentuelle de quelques aminoacides dans la molécule soit, à de certains moments, possible sans qu'elle entraîne une dislocation totale de tout l'édifice, il faut admettre, semble-t-il, que la place occupée par les différents aminoacides n'est pas la même ; les uns appartiendraient à un édifice central, véritable noyau dont les affinités, non satisfaites, permettraient le groupement autour de cet édifice primordial d'autres acides aminés appartenant à des sortes de chaînes latérales ou terminales labiles. Les acides aminés indispensables pourraient appartenir à ces chaînes terminales ; en vertu de cette position particulière dans la molécule, ils entreraient constamment en réaction avec les phases protoplasmiques dispersées à faible poids moléculaire et notamment avec les aminoacides constituant les matières azotées extractives dont le rôle de liaison entre les divers constituants protoplasmiques azotés se trouverait établi. Les faits récemment acquis sur le rôle joué par les dicetopiperazides dans la constitution des protides ne sont probablement pas en désaccord avec de telles représentations de la constitution moléculaire des protides, dont l'examen s'est trouvé négligé à la suite de

l'intérêt suscité par les remarquables recherches de JACQUES LOEB et de ses continuateurs.

Les hypothèses que nous soulevons ici ne sauraient, disons-le, être considérées comme de pures vues de l'esprit et, comme nous allons le montrer, certains faits déjà connus pourraient les étayer.

Faisons d'abord état d'une observation grossière peut-être mais pleine d'enseignements. La presque totalité des protides animaux ou végétaux connus à ce jour est caractérisée par une teneur en azote de 15 à 16 p. 100 ; or, ils sont constitués par des acides aminés différents, en proportions variables, et la teneur en azote de ces aminoacides peut varier de 7 p. 100 (pour la tyrosine) à 32 p. 100 (pour l'arginine). Il faut en conclure que la proportion pour laquelle certains acides aminés très riches en azote, comme l'arginine, entre dans la molécule des protides ne saurait être très variable et que la place occupée par l'arginine elle-même doit être bien spéciale. Cette idée, *a priori*, doit être rapprochée de certaines conceptions émises il y a longtemps par KOSSEL, et basées sur des faits expérimentaux.

Contrairement à beaucoup d'autres acides aminés, l'arginine, comme le remarqua A. KOSSEL, existe dans la molécule de tous les protides connus ; elle appartient à ce qu'il nomma le groupement prosthétique, peut-être au noyau central dont l'hypothèse de MAC COLLUM postule l'existence tandis que d'autres acides aminés ne seraient pas dans ce cas. La lysine, par exemple, ainsi que le montrent les recherches de KOSSEL et de ses collaborateurs, même engagée dans des protides, semble toujours avoir un groupement aminé libre titrant directement par la méthode de VAN SLYKE.

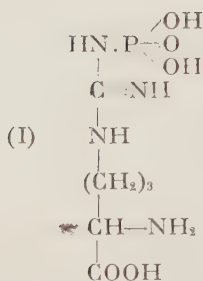
A ces arguments, on en pourrait ajouter d'autres. Les expérimentateurs ont insisté, depuis longtemps, sur le fait qu'au cours des divers types d'hydrolyses auxquelles on soumet les matières protéiques on observe que les divers acides aminés se détachent avec des vitesses très inégales de l'édifice moléculaire protidique : les uns, comme le tryptophane et la tryosine, très facilement et très vite, semble-t-il ; d'autres, au contraire, comme la phénylalanine, paraissent appartenir à des complexes plus résistants. La valeur de ce

dernier argument se trouve amoindrie du fait que l'ordre dans lequel se détachent les aminoacides varie suivant le catalyseur employé, et que nous ne devrions tenir compte *a priori* que du mode d'attaque normal des protides par les ferments endocellulaires des organes auxquels ils appartiennent. Il n'en reste pas moins raisonnable de se demander si la molécule de protides prenant part aux échanges pour couvrir les besoins énergétiques chez le jeûneur y participe par la totalité de ses aminoacides constituants ou par quelques-uns seulement. Dans cette hypothèse, on se représenterait les acides aminés appartenant au groupement prosthétique central comme jouant un rôle statique, ceux des chaînes terminales ou les plus distantes du noyau central comme sujets, au contraire, à des mutations quantitatives constantes, comme engagés dans des équilibres dynamiques, mobiles, avec les extractifs de même formule appartenant aux phases les plus dispersées du protoplasme (constituants azotés extractifs de faible poids moléculaire).

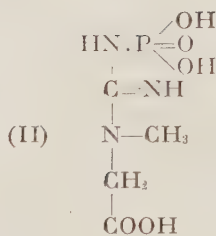
On sait, en effet, qu'en coagulant les tissus à l'ébullition par l'eau acétique, et en pratiquant l'épuisement par ce liquide, on fait passer en solution une série de matériaux azotés, réunis sous le nom d'extractifs, qui sont constitués pour deux tiers environ par la carnosine (β -alanylhistidine) et la créatine (acide méthylguanidine acétique), le dernier tiers contenant des traces de betaïnes, de petites quantités d'acides aminés libres ou d'ammoniac. Dans cette hypothèse, on devrait donc pouvoir saisir, dans le tissu musculaire, par exemple, des équilibres du type suivant :

Dans la molécule des protides		Dans les extractifs azotés
Cystine	$\rightleftharpoons$	Glutathion
Arginine	$\rightleftharpoons$	Créatine
Alanine	$\rightleftharpoons$	Carnosine
Histidine		

Les acides arginine-phosphorique et créatine phosphorique de O. MEYERHOF et K. LOHMANN (1928) pourraient éventuellement jouer un rôle intermédiaire analogue dans les muscles où on les rencontre (le premier (I) chez les invertébrés).



Acide arginine phosphorique.



Acide créatine phosphorique.

Cette conception nous oblige alors à préciser la manière dont nous devons nous représenter exactement le rôle des matières extractives azotées dans le métabolisme, rôle que quelques auteurs récents n'ont pas hésité à considérer comme d'importance primordiale.

Pour MITCHELL, NEVENS et KENDALL (53), tout le métabolisme azoté endogène (FOLIN) se limiterait à la synthèse et à la destruction des extractifs azotés ; les protides n'y prendraient aucune part ; les extractifs s'édifieraient aux dépens des produits de résorption des protides alimentaires durant les périodes digestives et, seulement dans les périodes de jeûne, aux dépens des protides cellulaires. Autrement dit, ces auteurs admettent que, chez l'adulte en équilibre de poids, les protides des tissus ne jouent aucun rôle dans le métabolisme. En admettant une telle hypothèse, on comprend facilement que les besoins qualitatifs d'azote ne soient pas les mêmes dans la croissance et dans l'entretien si les amino-acides nécessaires à l'édification de la molécule des protides ne sont justement pas les matériaux précurseurs indispensables à la synthèse des substances extractives azotées.

SHERMAN (80) prête, lui aussi, une grande importance aux acides aminés extractifs pour s'expliquer le rôle des protides dans le métabolisme azoté des êtres vivants. Il admet que, dans les tissus, l'intensité avec laquelle la molécule des protides est soumise à l'hydrolyse est fonction de la concentration des acides aminés extractifs au moment considéré mais sans qu'il s'agisse d'une action de masse pure et simple. Un acide aminé défini n'arrêterait la destruction hydro-

lytique de la molécule protidique qu'au moment où ce même acide aminé s'en détacherait. Si un apport d'azote aminé ne se fait pas alors de l'extérieur, la totalité de l'édifice moléculaire se disloque. Pour SHERMAN, un protide quelconque, contenant douze sur quinze acides aminés, a toujours, même si trois acides aminés indispensables manquent à sa molécule, douze chances sur quinze d'arrêter la destruction catabolique des protides protoplasmiques à un stade précoce. Par contre, on comprend bien que, dans la croissance, l'absence d'un seul acide aminé indispensable peut empêcher, à elle seule, l'augmentation de masse des tissus.

Cette dernière hypothèse, on le voit, rejoint donc la conception de MAC COLLUM que nous avons exposée plus haut, et à laquelle STEENBOCK et GROSS (83) se rangent; elle aussi distingue les besoins d'azote de la croissance et de l'équilibre, mais en invoquant, nous l'avons vu, la possibilité d'une destruction partielle de la molécule des protides durant l'équilibre.

Si l'on veut bien examiner l'ensemble des faits physiologiques rassemblés dans les lignes précédentes, on nous accordera que les problèmes touchant l'étude de la constitution moléculaire des protides que nous avons déjà abordé à propos de la dégénérescence musculaire ou du développement embryonnaire peuvent encore être utilement éclairés par des recherches faites dans le cas du jeûne. Les résultats obtenus peuvent éclaircir, non seulement les questions soulevées ici par nous, mais encore accessoirement, comme nous le verrons, la question si ancienne et si débattue des albumines de réserve, et celle de la signification même du besoin minimal d'azote.

* * *

N'ayant repris que quelques points très particuliers du métabolisme azoté des vertébrés supérieurs soumis au jeûne, on comprend que nous n'ayons pas entrepris de donner ici un exposé critique, raisonné, de tous les phénomènes observés au cours de cet état physiologique particulier. Une revue, relativement récente, a d'ailleurs rassemblé la majeure partie de nos connaissances sur le sujet, tant du point de vue

de la physiologie générale que de la physiologie spéciale MORGULIS (56).

Le jeûne ne nous intéresse ici que dans la mesure où il peut nous permettre de soumettre aisément à l'expérience l'ensemble d'hypothèses que nous exposons plus haut.

Nous devons nous adresser, en premier lieu, à l'analyse directe des tissus. Si le métabolisme des protides se fait de la même façon, dans le jeûne et à l'état normal, et comporte toujours l'édification ou la dislocation d'une molécule protidique entière, le pourcentage de tel ou tel acide aminé doit toujours rester le même dans un protide déterminé, au cours des divers états physiologiques. Il en sera tout autrement si, comme l'admet MAC COLLUM, l'attaque de la molécule des protides peut n'être parfois que partielle.

Le problème posé ne saurait être résolu par les expériences simples, par les déterminations peu nombreuses — elles ne portent que sur deux acides aminés — que nous allons relater ici ; mais un certain nombre de questions préjudicielles accessoires, doivent être tout d'abord écartées pour permettre d'arriver aux solutions définitives, qui nous permettront de comprendre la signification profonde du besoin minimal d'azote et le rôle exact joué par les protides chez les êtres vivants.

* * *

UNITÉ OU PLURALITÉ DES PROTIDES DANS UN MÊME TISSU ; RÉTENTION AZOTÉE ; PROTIDES DE RÉSERVE. — La forme sous laquelle le problème de l'existence possible de protides différents, dans un même tissu, s'est classiquement présentée aux physiologistes, est la suivante : Lorsqu'après un jeûne prolongé (expérimental ou contemporain de maladies infectieuses), on voit se faire, durant la période de récupération de poids corporel des fixations considérables d'azote, sous quelle forme cet azote est-il retenu ? Est-ce sous forme de protides ayant la même composition moléculaire que les protides constitutifs des tissus, et faisant partie de la cellule au même titre qu'eux ? Est-ce sous forme de protides de réserve spéciaux (Vorratseiweiss de VOIT) essentiellement labiles, augmentant le poids brut du corps sans que les

échanges soient, *en fait*, augmentés ; autrement dit, s'agit-il de protides n'augmentant pas la masse active du corps ? Nous ne donnerons ici ni la bibliographie, si copieuse de ce point discuté de la physiologie, si souvent exposé en détails dans de nombreux traités ; CASPARI et STILLING (13) en ont donné récemment une mise au point complète.

Nous ne voudrions qu'indiquer brièvement, en adoptant la classification de RUBNER, les différentes formes de protides de réserves que l'on distingue :

1^o L'albumine dont l'azote est excrétée dans les premiers jours de jeûne qui suivent l'équilibre azoté, avant que l'on arrive à l'excrétion minimale d'azote. Elle peut être homologuée à l'albumine circulante de VOIT, et est nommée « albumine de réserve » par RUBNER.

2^o RUBNER nomme « albumine de transition » l'albumine qui est retenue dans le cas d'une nourriture très riche en azote. Cette quantité est plus grande que « l'albumine de réserve ».

3^o Il nomme « albumine d'amélioration » l'albumine retenue jusqu'à une euexie cellulaire, cette partie est de l'albumine organique.

Comme il ressort de cette classification un peu verbale, qui est en accord avec celle donnée antérieurement par VOIT, les auteurs sont d'accord pour limiter l'application du terme « albumine de réserve ou de transition » à la fraction d'albumine qui est hydrolysée en abondance dans les premiers jours du jeûne. La réduction de l'excrétion azotée, à partir du cinquième jour de jeûne, au taux qui est maintenu pendant le reste de l'inanition est l'indice, pour tous les auteurs de l'utilisation complète des protides de réserve. Il est, dès lors, évident que l'albumine de réserve ou de transition ne fait qu'une faible partie de l'azote tissulaire si on adopte la conception classique. Seul, GREENE assimile les 30 p. 100 (1) de protides musculaires qui disparaissent au cours du jeûne du saumon à de l'albumine de réserve. La conservation parfaite de la structure histologique et la

(1) Nous avons critiqué plus haut le calcul de GREENE, toutefois l'ordre de grandeur doit être exact.

grande activité des muscles lui paraissent des preuves suffisantes. Les études de MORPURGO (57) ont montré l'importance possible de l'atrophie par inanition ⁽¹⁾, et la participation des différents éléments dans cette fonte.

* * *

ARGUMENTS PHYSIOLOGIQUES TIRÉS DU RAPPORT ÉCHANGES-POIDS. — Ne peut-on, par la détermination de la production calorique en fonction du poids, arriver à se convaincre de la présence ou de l'absence d'une Vorratseiweiss ? C'est ce que les physiologistes se sont demandé depuis longtemps, les méthodes biochimiques ne leur ayant pas apporté de réponse à la question posée. Une réponse a-t-elle été apportée par cette détermination indirecte ?

Nous ne rappellerons ici qu'une expérience bien connue de RUBNER. Les échanges d'un homme sont déterminés durant quatre périodes consécutives :

1^o Régime pauvre en azote ;

2^o Jeûne ;

3^o Régime riche en azote entraînant une fixation de 109 grammes (1) d'azote en deux jours ;

4^o Nouvelle période de jeûne.

Si on compare la production calorique, dans les deux périodes du jeûne, on voit qu'elle est beaucoup plus grande dans la seconde (après le régime riche en azote) qu'après la première. Or, *l'augmentation des échanges est proportionnelle à l'augmentation du poids*. RUBNER en a conclu qu'une partie, au moins, de l'azote retenu doit être de « l'*Organeiweiss* », albumine protoplasmique, identique fonctionnellement (et, par suite, qualitativement) à l'albumine de constitution des tissus. Qu'une partie au moins de l'azote fixé soit retenue sous forme d'albumine protoplasmique peut sembler, *a priori*, très probable. On limite, comme nous l'avons vu plus haut, la définition d'albumine de réserve aux protides correspondant à l'azote urinaire, du début du jeûne, excrété en

(1) La fonte plus rapide de certains groupes musculaires a déjà été interprétée par MIESCHER par une différence de la vascularisation.

plus de la quantité d'azote qui s'éliminera en régime constant. Dans une première période de nutrition, avec une nourriture pauvre en azote, cette albumine de réserve peut être très vraisemblablement utilisée et les cellules peuvent perdre de l'albumine, qui se réforme au cours d'une deuxième période quand la nourriture est riche en azote; les cellules se trouvent alors dans un état d'« euexie ». Le fait que l'organisme ne fait pas indéfiniment des réserves de protides quand on continue à lui fournir un grand excès de substances azotées, montre que sa capacité de stockage est très limitée et que l'état d'euexie est vite atteint ⁽¹⁾.

Le rôle du foie dans la rétention des albumines de réserve. — Le foie doit jouer un rôle important dans la rétention de protides. Les grandes variations du poids, de l'azote total, constatées par A. PUGLIESE (68) et A. SEITZ (79), pour cet organe, l'avaient déjà démontré depuis longtemps. Les constatations histologiques de gouttelettes présentant toutes les réactions des protides, après des repas riches en protides ou en acides aminés, l'ont plus récemment confirmé (BERG).

Il y a longtemps déjà que les physiologistes ont cherché à faire des variations du rapport $\frac{\text{phosphore nucléique}}{\text{azote albuminoïde}}$ un témoin des modifications que pouvaient subir les protides du foie durant le jeûne. KOSSEL a trouvé que ce rapport augmente de 50 p. 100 dans le foie des Poules à jeûn, comparées à des animaux témoins bien nourris. Nos chiffres personnels, on l'a vu, montrent une augmentation de 30 p. 100 pour le foie des Chiens jeûneurs; de 9 p. 100 seulement chez le Lapin, et de 6,5 p. 100 chez le Cobaye. GRUND (29) explique les valeurs, très différentes de celles de KOSSEL, qu'il a trouvées pour le rapport $\frac{\text{phosphore nucléique}}{\text{azote albuminoïde}}$, par le fait que ce dernier auteur aurait laissé du sang dans les organes examinés. En nous basant sur nos chiffres personnels, nous attribuons plutôt les divergences constatées à des différences entre la durée des périodes de jeûne écoulées depuis la fin du

(1) Les expériences récentes de HITCHCOCK et RAWLINS (30) sont trop incomplètes pour ruiner ces hypothèses.

gavage, avant que les animaux soient sacrifiés. Nos animaux normaux n'ont jamais jeûné plus de quelques heures avant d'être tués.

L'élimination de « l'albumine circulante » doit se faire d'autant plus vite que les échanges sont plus élevés; chez le Chien, il faut au moins quatre ou cinq jours pour que la totalité des albumines de réserve soit éliminée; le foie doit en être l'organe le mieux pourvu car le calcul montre qu'il perd alors plus de protides que n'importe quel autre organe de l'économie. En plein accord avec ce fait, PUGLIESE constate que c'est le foie qui retient le plus d'azote lorsqu'on réalimente des animaux à la suite d'un jeûne. Si KOSSEL a sacrifié ses animaux sans les avoir soumis à un jeûne préalable, si GRUND ne les a privés de nourriture que durant vingt-quatre heures, le désaccord entre ces deux auteurs s'explique aisément. Les valeurs que nous avons trouvées, pour le rapport $\frac{\text{phosphore nucléaire}}{\text{azote des protides}}$ dans le foie de Chien, sont identiques à celles données par GRUND; mais si le foie fournit la majeure partie de l'azote éliminé dans les premiers jours du jeûne, est-ce à dire que cet organe soit le seul qui soit susceptible de stocker des matériaux azotés? L'étude des variations du rapport $\frac{\text{phosphore nucléaire}}{\text{azote des protides}}$ n'a rien fourni à GRUND lorsqu'il s'est adressé au muscle de Poule ou au rein de Chien; on a pu voir, dans les pages précédentes, quels étaient, sur ce point, nos résultats expérimentaux. Le foie mis à part, l'intestin du Chien seul nous a montré une augmentation nette du rapport au cours du jeûne, augmentation qui ne se retrouve pas dans d'autres espèces comme le Lapin. On ne voit jamais d'augmentation de la teneur en phosphore nucléaire par rapport aux protides dans le cas des muscles du Lapin, on ne la voit que dans quelques cas chez le Chien.

Mais le raisonnement valable, dans le cas du foie, est-il applicable aux organes où l'augmentation n'est pas constante? L'augmentation de l'acide nucléaire, par rapport aux protides dans les tissus qui disparaissent en grande proportion, permet-elle d'appeler protides de réserve ceux qui disparaissent plus rapidement que l'acide nucléaire?

Nous ne le croyons pas. Nous avons vu dans l'étude sur la dégénérescence musculaire que 50 p. 100 des protides disparaissent au cours de l'atrophie. Dans ces cas, on constate toujours une augmentation de l'acide nucléique par rapport aux protides. Tout se passe, en somme, comme si une profonde différence existait entre les processus physiologiques où la diminution du protoplasme et du noyau se fait toujours avec des vitesses analogues ⁽¹⁾ et les processus pathologiques qui compromettent les équilibres cellulaires, et dans lesquels la disparition des protides se fait beaucoup plus rapidement que celle de l'acide nucléinique.

On voit que depuis longtemps des recherches déjà anciennes en font foi, les physiologistes se sont rendus compte des difficultés expérimentales que rencontrait l'administration directe des preuves de l'existence ou de la non existence des protides de réserve chez les animaux supérieurs. Aussi peut-on s'étonner que TERROINE, BRECKMANN et FEUERBACH aient pu considérer la question comme tranchée par les expériences que nous allons relater. Ces auteurs se basent sur le simple fait, pour nier l'existence des albumines de réserve, que les Souris normales ou mortes d'inanition ont un même pourcentage d'azote dans leur organisme. Nous avons fait remarquer, dans une note antérieure, qu'une telle conclusion était irrecevable, car tous les protides animaux présentent la même teneur en azote total, voisine de 16 p. 100 ; il est impossible de distinguer, dans un mélange éventuel de ces composés, si l'un ou l'autre a augmenté, diminué, voire disparu. Mais, dans un travail plus récent, TERROINE, TRAUTMANN et SCHNEIDER (87) sont revenus sur cette question. Ils croient répondre à notre objection en se basant sur ce que montre « la variation du taux des graisses en fonction des états de nutrition, tout particulièrement par la diminution au cours du jeûne. Il s'agit donc, non de la composition propre de la graisse, mais de sa proportion dans l'organisme ». Ils disent ensuite : « Le même raisonnement s'applique aux

(1) Cette égalité dans les vitesses de disparition peut bien n'être qu'approchée ; il n'est pas question d'admettre que les réductions de masse des deux composés se font équimoléculairement.

matières protéiques. Si une quantité significative de ces matières joue le rôle de réserve, le rapport de la matière protéique totale à tous les autres constituants de l'organisme doit également varier. Le taux de N sert à nous éclairer, non sur la *composition* des protéiques qui n'est pas en question, mais sur la *quantité* de ces protides présente dans l'organisme. Or, la proportion ne varie pas au cours de l'inanition, elle augmente très légèrement à la fin, augmentation toute relative résultant de la disparition des graisses. »

Notre critique garde toute sa valeur ; les auteurs ne font, quoi qu'ils en disent, que faire une détermination — approchée — de la teneur en azote des protides. Toutes objections relatives aux variations possibles de l'eau et de l'azote extractif mises à part, en faisant une détermination d'azote total sur une Souris avant et après le jeûne, *ils ramènent implicitement l'azote total au poids des protides* qui font, au moins, 75 p. 100 de la matière sèche et dégraissée. Les 25 p. 100 restant, le glycogène et les graisses ayant disparu, sont constitués par des substances minérales, et les variations de leur rapport pondéral avec les protides ne semblent pas permettre — il s'en faut — de résoudre définitivement un problème que tant de physiologistes se sont déjà posé. Nous refusons d'admettre que, par simple considération de la concentration en azote total de l'organisme, avant et après le jeûne, on puisse trancher la question de savoir s'il existe ou non dans les tissus un mélange de protides constitutifs et de protides de réserve.

Variation de la composition élémentaire des protides en fonction de différents états physiologiques. — En présence, du peu de renseignements qu'ont pu tirer les auteurs des variations de l'azote total dans les organes pour s'éclairer sur la présence éventuelle de protides de réserve, ils se sont adressés à l'analyse élémentaire. MULLER (60) a publié des chiffres de STOCKHAUSEN obtenus par analyse élémentaire des protides musculaires débarrassés de graisses, de cendres, de glycogène ⁽¹⁾. Le rapport $\frac{\text{azote}}{\text{carbone}}$ de ce « Fleis-

(1) Les techniques employées ne sont pas indiquées.

chrest » serait, chez un animal ayant reçu un régime pauvre en azote, de 3,38 et de 3,36 chez un Chien nourri exclusivement avec de la viande maigre de cheval. Pour deux Chiens en voie de croissance, soumis respectivement à ces mêmes régimes, les chiffres sont de 3,41 et 3,33. MULLER a établi ce même rapport pour un Chien dont les muscles donnent, au départ (dosage sur une jambe amputée), 3,38 et, après un régime prolongé pauvre en azote, de 3,36 (pour la jambe symétrique). L'auteur croit pouvoir conclure de ses chiffres qu'un régime pauvre en azote réduit la teneur en azote des muscles.

DIESELHORST (20) a fait des expériences du même type. Il donne à deux Chiens une nourriture insuffisante, surtout composée de riz ; il fait alors l'amputation d'une jambe, puis donne aux animaux une nourriture très riche en viande. Après un gain de poids dépassant largement la perte, au moins pour l'un des Chiens (¹), les animaux furent tués et l'auteur analysa les muscles de l'autre patte. Le glycogène fut déterminé par la méthode pondérale de PFLUGER, les graisses et les extractifs étant enlevés par la méthode de LEHMANN au Soxhlet.

Nous donnons, ci-dessous, les résultats par rapport à 100 grammes de « Fleischrest » :

TABLEAU XXIV

Composition élémentaire des protides musculaires après un jeûne azoté et après une période de nourriture riche en azote
(D'après DIESELHORST).

	CHIEN N° 1		CHIEN N° 2	
	Après jeûne	Après régime azoté	Après jeûne	Après régime azoté
C	51,4 %	52,34 %	51,87 %	52,43 %
H	7,34 %	7,33 %	7,30 %	7,42 %
N	15,96 %	16,20 %	16,28 %	16,46 %
O + S	25,3 %	24,11 %	24,55 %	23,69 %

(par différence)

Après la nourriture riche en azote, la teneur en carbone

(¹) Le deuxième Chien devait recevoir après la période de jeûne azoté une nourriture mixte, mais il n'en mangeait que la viande.

augmente de 0,94 p. 100 ; l'azote augmente de 0,24 p. 100, chez le Chien n° 1 ; les mêmes éléments augmentent de 0,56 et 0,18, pour le Chien n° 2.

Le rapport $\frac{\text{azote}}{\text{carbone}}$ ne change pas ; il est de 1/3,22 et 1/3,23, pour le Chien n° 1 ; de 1/3,188 et 1/3,185, pour le Chien n° 2. Comme nous l'avons vu plus haut, MULLER avait constaté une diminution du même rapport. DIESELHORST conclut qu'il n'y a pas de différence entre les protides tissulaires et les protides retenus après une nourriture riche en azote.

Arguments tirés de la détermination des acides aminés constituant des protides. — En dernière analyse, tous les procédés employés se présentant comme trop globaux, il était indiqué de recourir à la détermination des acides aminés, constituants, afin de voir si le pourcentage des uns ou des autres, dans un tissu déterminé, variait dans une même espèce avant et après le jeûne.

Pour se rendre indépendant de toutes contingences, il suffirait, *a priori*, de rapporter, à l'azote total des protides globaux d'un tissu, les quantités de quelques acides aminés choisis parmi ceux dont le dosage peut se faire avec le plus d'exactitude. Si ce pourcentage est modifié après le jeûne, ou si, mieux encore, le rapport entre deux de ces acides aminés change, on en pourra conclure : ou que l'édifice moléculaire de l'unique protide constituant n'est pas stable et que certains acides aminés disparaissent plus vite que d'autres, ou qu'il existe plusieurs protides de constitution différente, et que les uns se présentent comme plus labiles que d'autres.

L'existence de protides variés dans les tissus est, disons-le, admise par beaucoup d'auteurs comme ABDERHALDEN. Nous ne reviendrons pas sur tous les travaux auxquels a donné lieu la séparation des protides musculaires par des méthodes physiques, les ayant exposées ailleurs (CAHN) (10). Mais une caractérisation par la teneur en aminoacides constitutifs est bien peu avancée à l'heure actuelle. Elle se heurte, d'ailleurs, à de grosses difficultés ; elle est passible des objections suivantes :

1° Les protides doivent être ici étudiés après hydrolyse

acide en présence de glucose provenant de traces de glycogène non éliminées, certains acides aminés seront partiellement détruits (formation d'azote humique par la réaction de MAILLARD, GORTNER, etc.).

2° Les méthodes de dosage des acides aminés actuellement en usage sont assez grossières. Nous avons fait ailleurs (CAHN et BONOT) (8a), la critique des méthodes colorimétriques, de la méthode de VAN SLYKE, etc., qui prétendent les doser avec une très bonne approximation.

3° C'est, par analogie, avec ce que nous a appris l'étude des végétaux, que nous raisonnons en admettant, *a priori*, que la composition des protides de réserve pourrait être très différente de celle des protides constitutifs. On n'a jamais signalé chez les animaux l'existence d'albumines aussi incomplètes ou de composition aussi singulière que les prolamines des végétaux (zéine, gliadine, etc.).

4° La détermination du pourcentage des aminoacides constitutifs d'un protide est encore, en elle-même, un grossier procédé de caractérisation d'un protide, le nombre des isomères que l'on peut théoriquement se représenter comme possible à partir d'un nombre restreint d'acides aminés identiques en qualité et en quantité atteignant des chiffres d'ordre astronomique.

Est-ce la considération de telles objections, *a priori*, qui arrêta les chercheurs? On ne saurait l'affirmer. Toujours est-il que la bibliographie concernant le problème ici posé est d'une remarquable pauvreté.

DRUMMOND (21) a réuni, dans un tableau d'ensemble, les données des différents auteurs sur la composition des protides de quelques organes. Les chiffres sont très peu homogènes, tant pour un tissu homologue dans différentes espèces, que pour les différents tissus d'une même espèce. Nous croyons que l'hétérogénéité des résultats est due, pour une grande partie, aux techniques employées. Tous les résultats sont obtenus à l'aide de la méthode de VAN SLYKE, dont nous avons fait ailleurs la critique.

TILLMANS et ALT (90) ne constatent aucune différence dans la teneur en tryptophane des protides musculaires du Bœuf et du Cheval. Des chiffres réunis par OSBORNE et JONES (65),

il semble ressortir que la composition des protides musculaires est identique dans toute la série animale, si l'on considère la qualité et la quantité de leurs aminoacides constitutifs.

* * *

RECHERCHES PERSONNELLES. — Dans nos recherches personnelles, nous nous sommes adressés pour voir l'influence du jeûne sur les protides soit à des dosages d'azote total qui ne nous ont jamais servi que de points de repère, soit à des dosages d'acides aminés.

Ces dosages ont toujours été faits, comme dans nos recherches précédentes, sur des matériaux préparés de la façon suivante : l'organe à étudier est prélevé sur l'animal fraîchement saigné, et lavé ou non par les artères grâce à du liquide de Ringer, tiède, injecté sous pression ; est pesé, broyé dans un excès d'alcool à 96° ; puis extrait huit heures par l'alcool dans un appareil de Kumagawa. Les fragments d'organes sont séchés à l'étuve, à 50°, pour enlever l'alcool, puis à 105° jusqu'à poids constant après avoir été réduits en poudre impalpable dans un moulin à plateaux. Ceci constitue presque toujours, la matière première de nos dosages.

Inutile de dire que nous ne nous arrêterons pas un instant à l'objection qu'on pourrait nous faire à propos du fait que nos poudres d'organes sont des mélanges de protides et non des protides purs isolés. C'est, précisément de l'existence possible d'un tel mélange de protides dans les organes que nous désirons nous convaincre et nos expériences ont pour but de nous orienter sur cette question.

Sur nos poudres de protides dégraissées et séchées à poids constant, nous avons, évidemment, fait un grand nombre de déterminations d'azote total par la méthode de KJELDAHL. Nous n'en donnerons pas les résultats : les chiffres oscillent toujours, cendres non déduites, pour le foie, le rein, le poumon ou le muscle, entre 15,2 et 15,9 grammes pour 100 grammes secs et dégraissés. Les chiffres oscillent, pour les divers tissus d'une espèce donnée, de 2,3 p. 100 autour de la moyenne ; pour les jeûneurs, on trouve, en général, des

chiffres sensiblement plus élevés, soit de 15,7 à 16,3 p. 100 (la musculuse de l'intestin d'un Chien jeûneur nous a même fourni, dans un cas, 16,85 p. 100).

Cette constance, comme nous l'avons déjà fait remarquer dans notre introduction, est assez curieuse à certains points de vue ; elle avait déjà été constatée par JEANNEY sur les muscles de diverses espèces animales. Mais les poudres traitées par la technique indiquée plus haut contiennent encore, outre leurs cendres, de faibles quantités d'extractifs et du glycogène. La détermination du glycogène, faite par la méthode de PFLUGER sur différents échantillons pris au hasard, nous a montré que l'erreur, de ce chef, ne pouvait dépasser au maximum 1 p. 100, *les protides du foie exceptés*.

Les poudres de protides obtenues à partir du muscle, du rein, du cerveau, de l'intestin, du poumon, peuvent être débarrassées du peu d'extractifs ayant échappé à l'alcool et des constituants minéraux par le procédé de JEANNEY : ébullition avec l'acide acétique à 0,25 à 0,5 p. 100 et lavage à l'eau bouillante. Ce traitement fait régulièrement augmenter le poids des poudres de 1 p. 100 environ, sans que nous ayons cherché à déterminer s'il s'agissait là d'une fixation d'eau ou d'acide, ou d'une oxydation. Les substances qui se dissolvent représentent 8 à 10 p. 100 du poids de la poudre initiale. L'extraction des substances minérales n'est possible que si on pratique l'opération sur des quantités de poudre très petites (1 gr. environ). On extrait deux fois à l'ébullition avec l'eau acidulée, deux fois à l'eau bouillante ; on termine par des lavages à l'eau bouillante sur filtre sans plis ; l'ensemble des liquides d'extraction et de lavage représente un volume total de 200 centimètres cubes environ.

On peut se demander si les matières extraites sont exclusivement constituées par des extractifs, du glycogène et des cendres. Il n'en est rien ; quand on concentre dans le vide, à 50 p. 100 du volume initial, les liquides obtenus, on voit que la plus grande partie des matières extraites précipite par l'acide trichloracétique. Ces faits avaient déjà été observés par les auteurs qui, comme GREENE, ont employé la méthode de JEANNEY.

Si l'on fait des déterminations d'arginine et de cystine

sur la partie de la poudre de protides extraite par l'acide acétique, d'une part, et sur les matières précipitables par l'acide trichloracétique dans le filtrat, d'autre part, on s'aperçoit que les résultats obtenus sont les mêmes si on les rapporte à l'azote total. La composition des protides solubilisés et de ceux qui restent insolubles est analogue ; l'emploi de la technique de JEANNEY n'est donc indispensable que lorsqu'il s'agit d'embryons à terme, riches en cendres, ou lorsqu'il s'agit d'éliminer glutathion et sulfates minéraux pour doser la cystine. On peut dire que, si l'on n'a pour but que la détermination du pourcentage d'azote total, l'emploi de l'extraction acétique est inutile et qu'on peut s'en tenir aux poudres de protides dégraissées à l'alcool. Les poudres extraites à l'alcool et celles qui ont subi, en plus, le traitement à l'eau acétique sont équivalentes. Pour une comparaison rigoureuse de deux éléments, il est préférable de se servir des rapports à l'azote.

Mais le cas de la poudre de protides obtenue à partir du foie est différent. L'emploi de la méthode de JEANNEY est impossible sur ce matériel, comme nous l'avons exposé plus haut.

On ne peut donc, par de simples dosages d'azote, résoudre le problème de l'existence de protides de réserve dans les tissus et nous avons employé, de préférence, la détermination comparative des acides aminés constitutifs dans le jeûne et en régime normal. Nous nous sommes adressés, en premier lieu, à la méthode de VAN SLYKE sans chercher à faire la séparation individuelle des divers acides aminés dans le liquide provenant de la décomposition des phosphotungstates, les erreurs, pour ce temps particulier du dosage, étant trop importantes, ainsi que nous l'avons exposé ailleurs.

Nous avons préparé les protides des organes de Lapins lavés au Ringer, avant et après le jeûne, par la méthode de JEANNEY. Les résultats de ces expériences se trouvent réunis dans le tableau ci-contre :

TABLEAU XXV

Variations au cours du jeûne de la composition d'organes de Lapin
(Méthode de VAN SLYKE).

Tous les chiffres sont exprimés en grammes d'azote
pour 100 grammes d'azote total.

	Azote total des diaminés	Azote aminé des diaminés	Azote total des mono-aminés	Azote aminé des mono-aminés
Muscle normal	28,3	15,1	51,7	46,7
Muscle de jeûneur..	29,05	14,8	55,5	47,7
Foie normal	27,4	12,9	49,6	43,7
Foie normal	29,75	13,2	49,3	42,7
Foie de jeûneur. . .	31,6	14,4	56,7	52,2
Foie de jeûneur. . .	29,7	14,2	50,7	43,7

Cette distinction entre l'azote total ou aminé, soit des acides di-aminés, soit des acides mono-aminés, est trop grossière pour nous renseigner. Nous ne voyons aucune différence sensible entre les muscles, avant et après le jeûne, si ce n'est dans le rapport : $\frac{\text{azote total des acides mono-aminés}}{\text{azote total}}$, si peu défini toutefois que cette variation n'a, *a priori*, aucune signification profonde.

Dans le foie normal, les deux chiffres semblent indiquer une faible teneur en azote aminé des acides di-aminés et par rapport au foie de l'animal jeûneur, et par rapport au muscle. Les autres variations ne permettent aucune conclusion, vu que l'écart entre deux organes, dans des états physiologiques identiques, est trop grand pour permettre l'utilisation d'une moyenne.

I. — *Arginine.* — Dans la poudre, traitée de la manière indiquée plus haut, nous avons dosé deux acides aminés, à l'aide des techniques mises au point par nous : l'arginine et la cystine. Le tableau n° XXVI contient quelques résultats de dosages d'arginine, choisis de façon à rassembler les chiffres les plus différents obtenus sur un tissu donné, à l'état normal, et après un jeûne prolongé. L'arginine est rapportée à 100 grammes secs et dégraissés, et à 100 grammes d'azote de

TABLEAU XXVI
Teneur en arginine de 100 grammes secs et dégraissés de différents tissus.

N°	Espèce	Tissu	Arginine pour 100 gr. secs et dégraissés	Azote total de la poudre	Rapport : Arginine Azote total de la poudre	Observations
13	Lapins	Muscle.	7,98	15,70	50,8	Normal.
17	—	—	7,80	15,70	49,7	—
6	—	—	7,55	15,50	48,7	Inanitié.
7	—	—	7,91	16,35	48,3	—
1	Poule	Muscle.	7,76	15,95	48,7	Normale.
6	Chien	Muscle.	7,65	15,85	48,2	Normal.
16	—	—	7,47	15,85	47,2	—
19	—	—	7,49	16,20	46,2	Inanitié.
22	—	—	7,60	16,10	47,2	—
2	Bœuf	Muscle.	7,12	15,30	46,5	Normal.
20	Chiens	Reins.	7,56	15,25	49,5	Normal.
20	—	Cerveau.	7,12	14,75	48,3	—
7	—	—	7,07	14,65	48,2	Inanitié.
10	Lapins	Poumons.	7,78	15,55	50,—	Normal.
1	—	—	7,35	15,8	46,5	Inanitié.
1	Cobaye	Poumons.	7,09	16,2	43,7	Normal.
50	—	—	6,13	15,5	39,6	Inanitié.
28	Chien	Intestin Musculaire.	8,27	16,8	49,1	Inanitié.
31	—	Intestin Muqueuse.	6,78	15,1	44,9	—
21	Chiens	Foie total	7,46	16,0	46,6	Normal.
20	—	Foie (support conjonctif)	6,90	15,7	44,0	—
21	—	Foie (jus de presse)	6,92	15,05	46,0	—

la poudre. Un premier examen du tableau nous montre que la teneur en arginine des poudres des différents organes est du même ordre de grandeur.

Pour les muscles des différentes espèces, soit à l'état normal, soit après le jeûne, les teneurs en arginine de la poudre oscillent entre 7,1 et 8,0 p. 100, les rapports de l'arginine à l'azote de la poudre oscillent de 46,2 à 50,8. L'écart entre les chiffres est de 10 p. 100 dans les deux cas.

On constate une différence faible, mais nette, entre la teneur en arginine des muscles de Lapin et de Chien. La différence moyenne est de 5 p. 100. Nous n'avons pas suffisamment de résultats pour la Poule et le Bœuf, pour nous permettre d'affirmer une différence avec les précédents, différence qui serait inférieure à 5 p. 100.

Le rapport $\frac{\text{arginine}}{\text{azote}}$ dans les poudres de muscles, varie peu au cours du jeûne, mais devient cependant plus faible après l'inanition qu'à l'état normal. Ceci semble dû au fait que la teneur en azote est plus grande après le jeûne. Une variation de même sens, plus accusée toutefois, se manifeste dans le cas des poudres de poumon. La teneur en arginine des protides du cerveau est légèrement inférieure à celle des muscles, elle ne change pas au cours du jeûne. Il y a une différence sensible de la concentration en arginine de la poudre de muqueuse et de musculuse de l'intestin. Pour saisir une différence possible entre la teneur en arginine du tissu conjonctif et du suc cellulaire proprement dit, nous avons exprimé deux foies, broyés et mélangés de leur poids de sable, à la presse hydraulique. Nous avons dosé l'arginine dans les deux formations ; le rapport $\frac{\text{arginine}}{\text{azote}}$ ne présente pas de différence significative, il est légèrement inférieur à celui obtenu sur les autres organes, à l'exception du poumon de Cobaye.

II. — *Cystine*. — La teneur en cystine des différents muscles est à peu près la même. On constate une différence faible, mais nette, entre la teneur en cystine des muscles de Chien et des muscles de Lapin. Le jeûne ne fait pas varier la teneur en

TABLEAU XXVII

Teneur en cystine de 100-grammes secs et dégraissés de différents tissus.

N ^o	Espèce	Tissus	S. de la cystine pour 100 grammes secs et dégraissés	Azote total de la poudre extraite à l'acide acétique	Rapport : S. de la cystine azote de la poudre	Arginine/Azote cystine/azote	Remarques
16	Chien.....	Muscle.	1,03	16,15	6,37	1,97	Normal.
22	—	—	1,03	16,40	6,30	2,02	Inanitié.
5	—	—	0,93	15,30	6,08		Atrophie.
2	Boeuf	Muscle.	0,98	15,68	6,25	1,98	Normal.
17	Lapin	Muscle.	1,08	15,85	6,82	1,95	Normal.
6	—	—	1,073	16,25	6,61	1,96	Inanitié.
1	Poule.....	Muscle.	1,067	15,65	6,80	1,91	Normal.
28	Chien.....	Intestin Musculeuse.	0,803	15,75	4,80	2,72	Inanitié.
31	—	Muqueuse.	0,16	14,70	7,90	1,51	—
10	Lapin	Poumon.	0,994	16,05	6,18	2,16	Normal.
1	—	—	1,02	15,95	6,40	1,96	Inanitié.
20	Chien.....	Reins.	1,045	15,30	6,82	1,96	Normal.
7	Chien.....	cerveau	1,16	14,85	7,80	2,28	Inanitié.

cystine de 100 grammes de protides ; la diminution du rapport soufre de la cystine / azote total, au cours du jeûne, est due à l'augmentation de la teneur en azote de 100 grammes de protides. Le rapport $\frac{\text{arginine} / \text{azote}}{\text{cystine} / \text{azote}}$ est à peu près constant pour les différents muscles. La muqueuse et la musculuse de l'intestin ont des teneurs en cystine fort différentes ; ces différences sont de sens inverse de celles de l'arginine.

* *

Comme on le voit, on observe une grande constance dans la teneur des protides constitutifs des organes de mammifères, en arginine et en cystine, et cette constance même montre que nous étions fondés, en première approximation, à ne pas nous embarrasser d'un isolement préalable de protides purs dans chaque organe considéré.

Pour des raisons que nous avons donné plus haut, nous considérons que les poudres de protides obtenues par extraction alcoolique simple ou combinée à une extraction acétique ultérieure sont équivalentes : l'azote extractif, insoluble dans l'alcool, est très peu de chose, et les protides extraits par l'eau acétique ont, pour les éléments qui nous occupent, même composition que ceux qui restent. Nous sommes donc fondés à diviser, membre à membre, les deux rapports, $\frac{\text{arginine}}{\text{azote total}}$ et $\frac{\text{cystine}}{\text{azote total}}$, établis sur une même

poudre d'organe, afin d'avoir le rapport $\frac{\text{arginine}}{\text{cystine}}$ dans un même organe. Ce rapport oscille, dans toutes les poudres de muscle examinées, autour de 1,97, et les différences autour de la moyenne n'excèdent pas 2 p. 100, en dépit de la diversité des espèces dont proviennent les muscles examinés. Cette constance est très remarquable, si l'on songe que les erreurs possibles dans les dosages de l'arginine, de la cystine et de l'azote, expliquent, à elles seules, les différences entre les valeurs extrêmes que nous avons trouvées pour ce rapport. Nous pouvons donc dire, en nous appuyant sur nos déter-

minations, que les protides musculaires sont constitués par des albumines de composition étroitement définie.

Pour mieux comprendre quels rapports quantitatifs lient l'arginine et la cystine dans la molécule de protides, nous pouvons exprimer les quantités déterminées des deux acides aminés dosés, non plus en grammes, mais en molécules grammes. Il suffit de multiplier le rapport $\frac{\text{arginine}}{\text{cystine}}$

par le rapport inverse des poids moléculaires : $\frac{240}{174}$. On trouve : 2,71, nombre qui, à deux pour cent près, correspond au rapport simple $\frac{8}{3}$ ou 2,666.

Toutes réserves faites sur la labilité de certains amino-acides constituants, si on suppose que les protides musculaires sont des composés définis, on peut déterminer l'ordre de grandeur minima de leur poids moléculaire en se basant sur la teneur en arginine. En prenant une teneur de 7,6 p. 100 d'arginine, on aurait :

$$\text{PM} = \frac{8 \times 174 \times 100}{7,6} = 18.300.$$

Le rapport $\frac{\text{arginine}}{\text{cystine}}$, calculé de même dans le cas des poudres d'intestin (muscleuse et muqueuse), donne, si l'on choisit comme unité les poids moléculaires :

$$2,72 \times 1,38 = 3,75 \text{ pour la muscleuse ;}$$

et :

$$1,51 \times 1,38 = 2,09 \text{ pour la muqueuse.}$$

La séparation des deux fractions de l'intestin ne peut être intégrale. Il reste toujours, dans une partie, quelques éléments de l'autre. Aussi, comme les teneurs en arginine et en cystine diffèrent en sens contraire dans les poudres de muscleuse et de muqueuse, comme, d'autre part, plusieurs dosages de cystine effectués sur les protides extraits à alcool non broyés de muscleuse nous ont révélé une hétérogénéité assez impor-

tante, nous pensons que les derniers chiffres calculés sont imprécis et qu'il conviendrait de les remplacer par les rapports simples :

$\frac{8}{2}$ pour la musculéuse ; $\frac{8}{4}$ pour la muqueuse.

Ces derniers rapports montreraient l'existence de groupes d'albumines différents, dans les divers organes, mais ayant une composition définie.

DISCUSSION DES RÉSULTATS OBTENUS DANS L'ÉTUDE DES PROTIDES

Au cours de nos recherches sur le sort des protides durant le jeûne prolongé, nous avons constaté, comme on l'a vu, que la teneur en arginine restait, à très peu près, constante dans la majeure partie des organes examinés, et qu'il en était de même pour la cystine. Le poumon, la muqueuse et la musculéuse intestinale prennent une place à part sur laquelle nous reviendrons plus loin.

Pour tant est que nos dosages soient assez nombreux, ils nous permettent de répartir les muscles des espèces examinées en deux groupes : muscles du Bœuf et du Chien, d'une part ; muscles du Lapin et de la Poule, d'autre part. La teneur en arginine est de 5 p. 100 plus élevée dans le second groupe que dans le premier, les variations de la cystine étant parallèles. *Mais, fait important, dans tous les muscles examinés, le rapport de l'arginine à la cystine est constant ; le rapport moléculaire des deux aminoacides est comme $\frac{8}{3}$.* Nous pouvons en

conclure que nos poudres de protides musculaires sont constituées soit par un protide unique, soit par un mélange de protides qui ont toujours même teneur en arginine et cystine, soit, enfin, par un mélange de protides où ce rapport est différent, mais dont les concentrations réciproques ne varient que très peu ou pas d'une espèce à l'autre, normalement comme au cours du jeûne.

Si l'on considère les tissus autres que les muscles striés, on voit que la muqueuse et la musculuse de l'intestin ont une teneur en arginine nettement différente de celle trouvée pour les autres organes ; de même pour la cystine, la musculuse en contient 30 p. 100 de moins que les autres tissus, tandis que la muqueuse est un peu plus riche. Le rapport du nombre de molécules des deux acides aminés est comme $\frac{8}{2}$ dans le cas de la musculuse, et $\frac{8}{4}$ dans le cas de la muqueuse. On voit donc que la muqueuse de l'intestin grêle contient, pour une même quantité d'arginine, deux fois plus de cystine que le muscle lisse.

Ces constatations nous permettent donc d'affirmer que les divers protides des tissus n'ont pas la même composition. Mais cette variation est-elle très étendue? Existe-t-il un protide spécifique de chaque organe? Nous avons examiné, pour nous en faire une idée, le rein, le poumon, le cerveau ; mais avant d'examiner les chiffres qu'ils nous ont fournis, une discussion s'impose.

Avec le muscle, nous avons affaire à un tissu très homogène et peu riche en gros vaisseaux. Dans le tissu rénal, nous avons, au contraire, une grande quantité d'éléments vasculaires. Dans le poumon, nous avons, à côté de l'épithélium pulmonaire, des tissus élastique et conjonctif bronchique. Chaque formation histologique n'aurait-elle donc pas ses protides de constitution propre? En dépit de cette objection dont la force s'impose, *il est curieux de constater que les protides du rein ont la même teneur en arginine et en cystine que ceux du muscle.* Malgré une grande hétérogénéité morphologique, nous ne saisissons pas ici d'hétérogénéité chimique. Même dans le cas des protides du tissu pulmonaire, dont nous signalions la complexité, le rapport $\frac{\text{arginine}}{\text{cystine}}$ — qui n'est pas un rapport simple — n'est pas extrêmement différent de celui du muscle. Le cerveau nous a donné un rapport $\frac{\text{arginine}}{\text{cystine}}$ caractéristiques.

En résumé, il existe dans les organes de mammifères des protides différents ayant des teneurs variables en arginine

et plus encore en cystine. Mais la prise en considération du rapport du nombre des molécules arginine et cystine montre que le nombre des molécules d'arginine doit toujours être 16 ou un multiple de 16, comme le montre le tableau suivant :

Organes	Rapport du nombre des molécules arginine et cystine
Muqueuse intestinale.....	16:8
Cerveau.....	16:7
Rein.....	16:6
Muscles.....	16:6
Muscleuse intestinale.....	16:4

La constance du nombre de molécules d'arginine semble bien démontrer que c'est l'arginine qui détermine effectivement la grandeur de la molécule protidique. On peut supposer que chacune des différentes molécules d'arginine entrant dans la composition de l'édifice forme un noyau, et que c'est autour de ce noyau que se fixent les divers amino-acides.

Les travaux récents de FÉLIX (21 a) confirment assez bien cette manière de voir. Par une hydrolyse peptique, cet auteur sépare certains protides en fragments, dont il étudie la composition en groupements acides et basiques d'aminoacides. Il conclut de ses recherches que la molécule de protides doit être considérée essentiellement comme formée de groupes les uns basiques, les autres acides, l'arginine et la lysine jouant un rôle primordial dans la constitution des groupements basiques.

Éclairés par nos résultats biochimiques, nous pouvons maintenant entreprendre de répondre aux questions de physiologie posées au début de notre travail: Si les muscles perdent, dans le jeûne absolu, une forte proportion de protides, peut-on dire que ceux qui ont disparu ont la même composition que ceux qui restent? Si leur composition est la même, ceci entraîne-t-il un rejet définitif des conceptions de MAC COLLUM sur l'hydrolyse partielle de la molécule protidique?

Nos chiffres montrent l'identité du rapport $\frac{\text{arginine}}{\text{cystine}}$ dans les muscles de tous les mammifères normaux ou inanitiés, constatation en faveur de l'identité des protides consommés

et non consommés au cours du jeûne par l'animal qui vit aux dépens de sa propre substance. La raison en doit être cherchée dans le fait que les organismes, tels que ceux étudiés par nous, ne peuvent stocker d'azote que sous forme de *protides organisés*, et que ces derniers ne peuvent l'être que sous la forme d'éléments de type morphologique et chimique différenciés.

Mais on sait que la quantité de protides susceptible d'être brûlée pendant le jeûne, sans atteinte à la vitalité de l'organisme, est relativement très considérable ; on refuse à ces protides le nom de « réserves » ; pourquoi ?

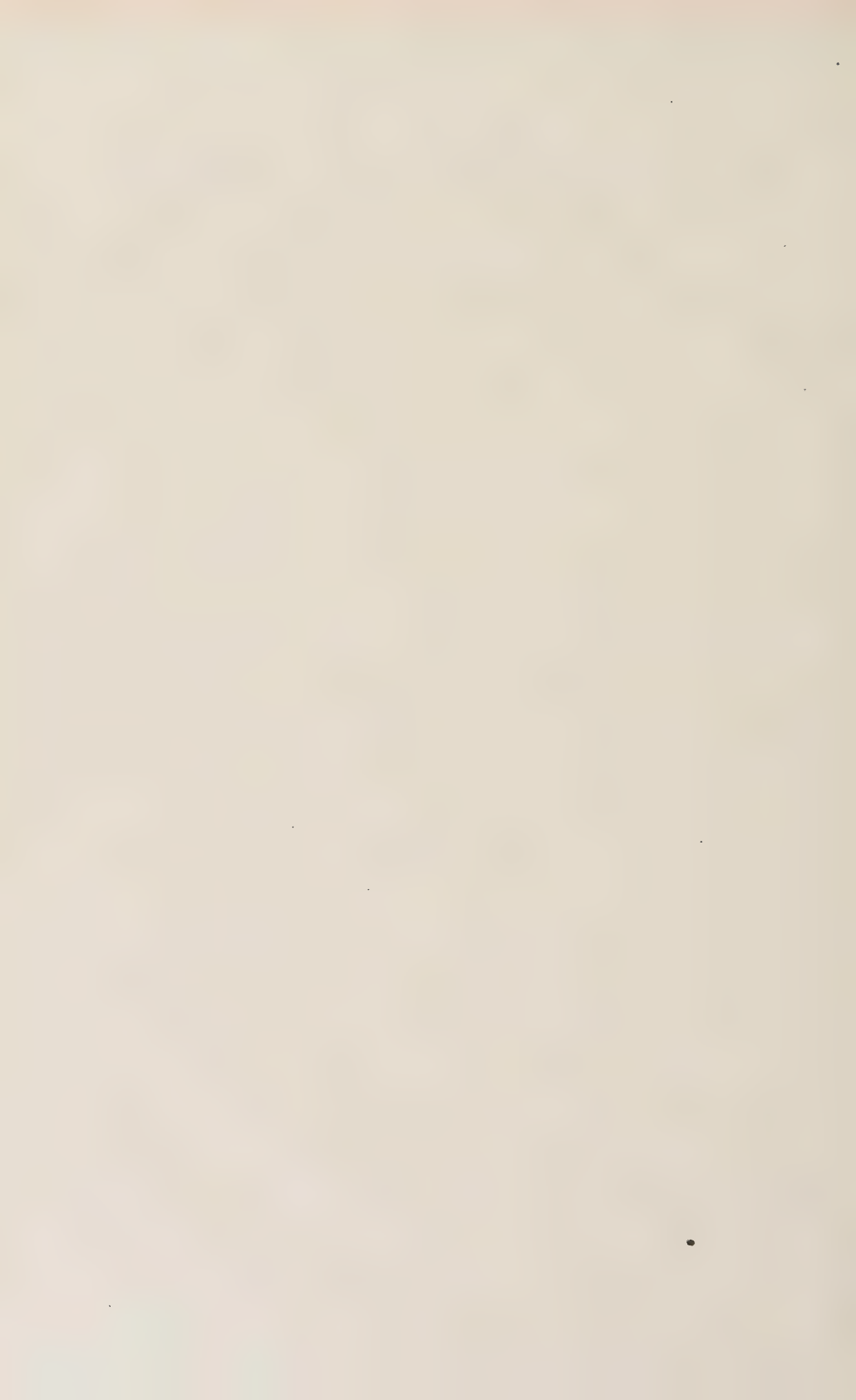
A la vérité, si tout le monde est d'accord pour attribuer aux glycérides entreposés dans les tissus la qualification de réserves, c'est parce qu'on ne les trouve plus à la fin du jeûne dans le mésentère, la région périrénale, le tissu cellulaire sous-cutané, où ils sont normalement entreposés, et qu'ils fournissent dans l'inanition 85 p. 100 de l'énergie chimique consommée. Si les protides n'en fournissent que 15 p. 100 s'ils sont empruntés aux protides constitutifs de tels ou tels organes et non à un tissu comme le tissu adipeux spécialement différencié, en quoi cela peut-il leur faire refuser l'appellation de réserves ? Si leur forme de dépôt est différente de celle des graisses, ils se détruisent ou se reconstituent suivant les possibilités alimentaires et exactement comme les lipides ; le fait qu'ils n'interviennent que pour 15 p. 100 dans le jeûne est en accord avec ce qui se passe normalement quand l'organisme utilise une ration bien équilibrée.

Pour nier l'existence de protides de réserve, restent les arguments tirés de l'étude des échanges dans l'inanition. On sait que, selon RUBNER, la surface n'est plus une bonne unité de référence à laquelle on puisse rapporter les échanges pendant le jeûne. Par rapport au poids, ils ont une tendance nette à diminuer régulièrement. Si cette constatation devait parler contre l'existence de protides de réserve, elle devrait également parler contre l'existence de lipides de réserve ⁽¹⁾.

(1) VOIR avait pensé pour expliquer cette diminution à faire intervenir l'augmentation procentuelle du poids du squelette, moins touché par le jeûne que les organes. L'examen de l'unique exemple donné par lui montre que cette explication n'est pas satisfaisante.

C'est la prise en considération d'autres facteurs que ceux invoqués ici qui peut expliquer la variation des échanges au cours de l'inanition.

Nous pensons que, pour trancher définitivement la question des protides de réserve dans le sens où nous les avons définis, bien d'autres expériences physiologiques et biochimiques sont à faire.



CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Les conclusions générales de notre travail sont les suivantes:

1^o Nous avons mis au point une série de techniques qui permettent la détermination correcte d'un grand nombre de constituants cellulaires. Nous avons apporté deux méthodes nouvelles grâce auxquelles la cystine et l'arginine peuvent être dosées dans un protide pur ou un mélange de protides avec une erreur qui n'atteint pas 2 p. 100.

2^o Dans nos recherches sur le développement embryonnaire de la Poule, nous avons établi les courbes d'accroissement des acides gras, des phospholipides, de la cholestérine et de l'arginine. Ces courbes ont toutes la même allure ; nous en avons discuté la formule et la signification. Nous avons exposé les raisons qui s'opposent selon nous à ce que la comparaison de la formule qui traduit l'ensemble des phénomènes de croissance, avec celle des réactions monomoléculaires autocatalytiques, ait un sens profond.

3^o Employant une technique différente de celle de MURRAY, mais en accord avec un principe posé par TUNNICLIFFE, nous avons pu montrer que l'augmentation de teneur en glutathion de l'embryon est beaucoup plus faible que celle de la cystine.

4^o L'étude des protides de l'ensemble des tissus de l'embryon au cours de l'embryogenèse révèle leur remarquable constance en azote total et en arginine. Au contraire, leur concentration en cystine est sujette à de très importantes variations pouvant atteindre 45 p. 100.

5° Du premier au dernier jour de l'incubation, la quantité de cholestérol contenu dans l'œuf total ne change pas ; il n'y a ni destruction, ni synthèse de ce constituant.

6° L'étude des protides de l'œuf autres que ceux de l'embryon montre qu'ils ne subissent aucune variation systématique de leur teneur en azote total. Il n'y a pas de synthèse ni d'arginine ni de cystine durant l'incubation, et vraisemblablement d'aucun autre aminoacide.

7° La quantité d'acide urique formée par l'embryon correspond à une destruction de 135 milligrammes de protides. Si on admet qu'ils contiennent 7 p. 100 d'arginine, 10 milligrammes de cet acide aminé seraient brûlés, soit 2,5 centièmes de la *quantité moyenne* trouvée dans les œufs de Leghorn au départ. Cette disparition n'est pas accessible à l'analyse. La constance de la teneur en arginine dans l'œuf total parle contre une utilisation de cet acide aminé pour la formation de la créatine au cours du développement.

8° La teneur en soufre organique total de l'œuf reste la même d'un bout à l'autre du développement. Une partie de la cystine donne naissance à du glutathion.

9° On ne trouve pas dans l'œuf, à aucun stade, de restes de molécule protidique, pouvant faire penser que tel ou tel acide aminé indispensable ait pu être détaché et utilisé sélectivement. Toute molécule de protide touchée par l'hydrolyse est totalement employée par l'embryon, une très petite fraction pouvant donner de l'acide urique, le reste subissant éventuellement un regroupement spécifique, caractéristique de l'espèce considérée.

10° Nous avons discuté le rôle joué par les glucides et les protides dans le développement. En nous basant sur la quantité d'acide urique formé, nous avons montré que les protides brûlés par l'embryon paraissent correspondre, d'après la part prise aux échanges totaux, à la simple couverture du besoin minimum d'azote. Ce fait donne à l'œuf de Poule une place toute spéciale dans l'ensemble de nos connaissances actuelles sur l'énergétique du développement. Il n'y a pas d'œufs dans lesquels la consommation de protides soit aussi petite.

11° L'étude biochimique du contenu de l'œuf montre que

l'énergie du développement est empruntée, pour une part considérable, aux acides gras des glycérides et des phospholipides. Il est impossible de décider actuellement de la voie de combustion de ces lipides (utilisation directe ou passage préalable par le stade glucose).

12° La presque totalité de l'énergie chimique utilisée par l'embryon de Poule au cours du développement correspond à de l'énergie d'entretien. L'énergie de synthèse ne peut représenter qu'un faible pourcentage des dépenses totales. On ne peut nier, ni affirmer, l'existence d'une énergie de structure : sa petitesse, le caractère indirect des procédés qui pourraient servir à la mesurer ne permettent pas de toucher la question.

13° Dans la seconde partie de notre travail, nous nous sommes efforcés d'étudier l'évolution des lipides et des phospholipides dans les tissus de mammifères, soumis au jeûne, jusqu'à perte de 30 p. 100 de leur poids. Nous avons également étudié l'action de l'inanition sur la teneur des organismes totaux (Souris et Rats), en créatine et cholestérine ; sur le phosphore total des organes ; sur la concentration en acide nucléique des tissus ; sur la constitution des protides (azote total, arginine, cystine) des muscles et organes glandulaires.

14° La cholestérine diminue moins vite, au cours du jeûne, que beaucoup d'autres constituants protoplasmiques ; ceci entraîne une augmentation de concentration relative de cet élément.

15° Dans les muscles de toutes les espèces étudiées, on constate, durant le jeûne, une diminution de concentration des phospholipides. Le poumon, le rein, le cerveau, montrent peu de variations ; elles sont plus considérables dans le foie.

L'évolution du rapport $\frac{\text{acides gras}}{\text{phosphore lipidique}}$ permet de saisir l'utilisation presque totale des réserves de lipides dans les tissus. L'existence de rapports incompatibles avec la formule des phosphatides est en faveur de l'existence de restes phosphorés provenant de la molécule des phosphatides, et solubles dans la benzine anhydre.

16° On observe, dans les divers tissus des animaux normaux, que les variations de l'acide nucléique sont toujours grossièrement parallèles à celles du phosphore lipidique. Sur le Rat

(organisme entier), on voit que le rapport $\frac{\text{acide nucléique}}{\text{azote total}}$ reste toujours sensiblement le même que l'on considère l'animal normal ou inanitié. Dans les muscles, on n'observe pas de variations systématiques du pourcentage d'acide nucléique ; par contre, il y a dans le foie une indiscutable augmentation.

17° Le rapport $\frac{\text{créatine totale}}{\text{azote total}}$, pour l'organisme entier de la Souris, garde dans l'inanition la même valeur que chez l'individu normal.

18° Le phosphore total est constant pour les muscles d'une espèce ; durant le jeûne, il peut soit rester invariable (Lapin), soit diminuer (Chien).

19° En résumé, on voit que, suivant l'organe ou l'espèce considéré, les modifications des équilibres protoplasmiques qu'entraîne l'inanition sont telles que les constantes de vitesse de formation et d'utilisation des constituants cellulaires sont différemment affectées suivant le composé considéré.

20° Chez les animaux normaux, la teneur en arginine et cystine de la plupart des protides de l'organisme est, à peu de chose près, la même ; le pourcentage d'arginine est du même ordre de grandeur (7,3 p. 100) que pour les protides totaux de l'embryon de Poule. Le rapport $\frac{\text{arginine}}{\text{cystine}}$ est variable pour les protides des différents tissus.

21° Après le jeûne, la teneur en azote total des protides tend à augmenter légèrement ; la concentration en arginine et en cystine ne change pas ; le rapport $\frac{\text{arginine}}{\text{cystine}}$ reste donc invariable.

22° Ces constatations nous ont permis d'affirmer l'existence de protides différents, dans les tissus des divers organes. L'absence de fragments de molécules protidiques incomplets dans l'inanition n'est pas en faveur de la possibilité d'attaque partielle des molécules quand l'organisme vit aux dépens de sa propre substance.

23° Nos recherches montrent que la détermination de l'azote total est impuissante pour nous permettre de suivre

d'éventuelles modifications de constitution de la molécule des protides, leur teneur en azote total restant toujours de 15,5 p. 100 en dépit de leurs différences de constitution.

24° Il existe, en résumé, dans les organes des mammifères, des protides différents ayant des teneurs variables en arginine et, plus encore, en cystine ; mais la prise en considération du rapport du nombre des molécules d'arginine et de cystine montre que le nombre des molécules d'arginine doit toujours être 16, ou un multiple de 16, dans les mélanges de protides tissulaires examinés par nous.

25° L'examen de l'ensemble de nos résultats concernant la constitution des protides permet de discuter utilement quelques théories physiologiques modernes, sur le sens du métabolisme des protides et la signification probable de l'équilibre protides $\rightleftharpoons$ constituants azotés extractifs, dans les cellules vivantes.

APPENDICE

TECHNIQUES EMPLOYÉES DANS CE TRAVAIL.

Nous ne décrivons pas en détail la technique de dosage des différents composés étudiés ; nous l'avons indiquée dans des mémoires antérieurs.

Tous les organes ont, dans un premier temps, été soumis à une extraction alcoolique dans un appareil de Kumagawa. Les substances dosées sont les suivantes :

a) Sur l'extrait alcoolique séché et repris par la benzine anhydre :

1° Le phosphore lipidique, d'après la méthode de NEUMANN-GREGENSEN ;

2° Les lipides totaux ;

3° L'azote de la solution benzénique.

b) Sur la partie non soluble dans la benzine anhydre :

1° Le phosphore extractif ; cette fraction ne figure dans nos tableaux, que réunie aux autres formes de phosphore, sous le nom de *phosphore total* ;

2° L'azote extractif hydrosoluble ;

3° Poids sec des extractifs.

La poudre dégraissée obtenue après l'extraction alcoolique est séchée à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant. La différence entre le poids frais et la somme du poids sec et dégraissé, des lipides totaux et des extractifs, nous donne la teneur en eau.

Sur des prises de la poudre sèche et dégraissée, finement

broyée et homogénéisée dans un moulin à plateaux, nous avons dosé :

1° L'azote total, sur une prise de 0 gr. 800 à 1 gr. 2, par la méthode de Kjeldhal, en employant un minimum de 0 gr. 6 ;

2° L'arginine, sur 1 gr. 5 à 2 gr. 5, d'après notre méthode décrite plus loin.

3° La cystine, sur une prise de 0 gr. 3 à 0 gr. 5, par le sulfate de benzidine, d'après le procédé également décrit plus loin.

4° Le phosphore nucléique, d'après la technique de PLIMMER et SCOTT, le phosphore étant dosé par la méthode de NEUMANN-GREGERSEN.

Comme nous l'avons déjà fait remarquer, dans un mémoire antérieur, JAVILLIER et ALLAIRE (12 bis) ont préconisé assez récemment une nouvelle méthode pour le dosage du phosphore nucléique. Ces auteurs recommandent la méthode de PLIMMER et SCOTT, dans le cas de la présence de phosphoprotides. Les organes que nous avons examinés n'en contenant pas, nous avons comparé la méthode décrite par JAVILLIER et ALLAIRE (1), qui est très rapide, à celle plus laborieuse de PLIMMER et SCOTT. Nous nous sommes efforcés d'observer rigoureusement les conditions décrites par JAVILLIER et ALLAIRE, mais nos résultats étaient non seulement inférieurs à ceux obtenus par le procédé de PLIMMER et SCOTT — ce qui pourrait s'expliquer, en partie, par la présence de nucléotides, etc. — mais encore n'étaient pas constants, sur un tissu déterminé. Si les chiffres obtenus sont faibles par rapport à ceux que donne la méthode de PLIMMER et SCOTT, cela nous semble dû à l'imperfection de l'extraction ; des extractions, répétées jusqu'à quatre fois, nous ont toujours donné des précipités d'acide nucléique dont l'importance dépendait de la richesse du tissu en acide nucléique. Nous ne sommes jamais arrivés à avoir des chiffres identiques à ceux qu'on obtient avec la méthode de PLIMMER et SCOTT.

Nous donnons, ci-dessous, quelques exemples de nos essais :

(1) Nous avons prolongé l'ébullition comme les auteurs l'indiquent dans un mémoire ultérieur.

Phosphore nucléique pour 100 grammes secs et dégraissés.

	MÉTHODE DE : PLIMMER & SCOTT	MÉTHODE DE : JAVILLIER & ALLAIRE
Muscle de lapin normal. .	0,146	Une seule extract. : 0,0305 (1)
Intestin de lapin normal	0,660	1 ^{re} extract. 0,210 2 ^{me} — 0,090 <u>0,300</u>
Nouvelle prise du même intestin	0,660	Une seule extract 0,167
Intestin de lapin ayant jeûné.	0,605	1 ^{re} extract. 0,177 2 ^{me} — 0,034 <u>0,211</u>
Muscle de lapin ayant jeûné.	0,120	1 ^{re} extract. 0,042 2 ^{me} — 0,038 <u>0,080</u>

Il n'est donc pas possible de considérer la méthode de JAVILLIER et ALLAIRE comme équivalente à celle de PLIMMER et SCOTT. Les auteurs eux-mêmes semblent avoir renoncé à définir exactement quel fractionnement elle faisait, quels corps elle dosait exactement; ils ne la considèrent en somme, sans plus, que comme toujours comparable à elle-même, sans affirmer qu'elle assure une extraction intégrale de tout l'acide nucléique.

On pourrait, ainsi que l'a proposé ADLER (1 bis), simplifier grandement le dosage du phosphore nucléique, en faisant bouillir, à plusieurs reprises, la poudre d'organe sèche et débarrassée des lipides, dans de l'eau acidulée par l'acide acétique à 0,5 p. 100. On dissoudrait ainsi tout le phosphore minéral et le phosphore acidosoluble; il ne resterait, dans le cas des tissus, que le phosphore nucléique. Nous avons cherché à vérifier cette méthode et sur du tissu musculaire, relativement pauvre en phosphore nucléique, et sur de l'intestin qui en est, au contraire, très riche. Dans le cas du muscle, le phos-

(1) Ce chiffre coïncide à peu près avec celui indiqué par JAVILLIER et ALLAIRE pour le muscle de Cheval.

phore, soit minéral, soit organique, mais non nucléique, est très abondant par rapport au phosphore nucléique, ce dernier ne faisant, en général, que le tiers du phosphore présent dans la poudre d'organe après extraction alcoolique. Par contre, dans le cas de l'intestin, plus des deux tiers du phosphore restant dans la poudre s'y trouvent sous forme de phosphore nucléique.

Phosphore nucléique dans 100 grammes secs et dégraissés.

	MÉTHODE :	
	PLIMMER & SCOTT	Extraction acétique
Muscle de chien.....	0,095	0,275
Intestin de chien.....	0,496	0,487

Tandis que, dans le cas du muscle, la méthode à l'extraction acétique ne peut pas être appliquée, elle donne de bons chiffres dans le cas des organes riches en phosphore nucléique.

L'évolution quantitative de l'acide nucléinique, au cours du développement embryonnaire, a été faite dans le travail bien connu de LE BRETON et SCHAEFFER (14 bis), grâce à une mise au point rigoureuse de la technique de dosage indirect par l'azote amino-purique. Depuis l'apparition de ce mémoire, un grand nombre d'auteurs ont cherché à voir des variations de ce composé dans différents états physiologiques.

Nous citerons, par exemple, PRZYLECKI et ses collaborateurs. Or LE BRETON et SCHAEFFER avaient attiré notre attention sur le fait que le dosage de l'azote amino-purique par la technique qu'ils employaient perdait toute précision *quand on l'appliquait aux tissus adultes des animaux et non plus à l'embryon*. Malgré les nombreux essais faits avant la publication de leur travail et depuis à l'Institut de Physiologie de la Faculté de Médecine de Strasbourg, il a été impossible de déterminer exactement les conditions qui rendent impossible une précipitation cuivreuse quantitative quand on n'opère plus sur les tissus embryonnaires. On aurait donc pu s'attendre à trouver, dans les travaux des auteurs qui ont suivi LE BRETON et SCHAEFFER, une justification de l'emploi de la technique de KRUGER-SCHITTENHELM, donnant un sens aux expériences entreprises sur l'adulte. Or

cette justification n'a jamais été faite à notre connaissance.

Comme la méthode de PLIMMER et SCOTT permet la détermination de l'acide nucléique par un autre composé que les aminopurines, il était intéressant de voir quels résultats donnerait la confrontation des chiffres d'azote et de phosphore nucléique, simultanément obtenus sur un même tissu. On sait que, dans l'acide nucléique de levure, le rapport phosphore nucléique / azote amino-purique est de 0,886.

Sur des tissus de Lapins, Chiens et Rats (¹) extraits à l'alcool, nous avons dosé simultanément le phosphore nucléique (PLIMMER et SCOTT) et l'azote des amino-purines (double précipitation cuivrique).

Pour ne pas multiplier les tableaux, nous ne donnons l'ensemble de nos chiffres que sous la forme du rapport phosphore nucléique / azote purique. Des dosages en double de phosphore nucléique faits sur des prises de tissus différentes par la méthode de PLIMMER et SCOTT, nous ont *toujours* donné des chiffres identiques ; au contraire, la détermination de l'azote des amino-purines ne nous a qu'exceptionnellement donné des résultats concordants. Exemples :

(¹) Dans le cas des Rats, les dosages ont été faits sur la carcasse (muscles et os) extraite à l'alcool après éviscération totale et pulvérisation fine au moulin à plateaux après broyage.

TABLEAU I

Rapport $\frac{\text{phosphore nucléique}}{\text{azote amino-purique}}$ dans les muscles des Mammifères.

N°	Espèces	Rapport :		Observations
		Phosphore nucléique	azote amino-purique	
1	Chien.....	1,61	1,53	Normal.
7	—	0,91	1,00	Jeûneur.
1	—	1,85		Muscle atrophié.
3	—	0,735		—
5	—	0,96		—
2	Lapin	2,33	1,63	Jeûneur.
4	—	1,49		—
5	—	1,85		—
10	—	1,59	1,79	Normal.
12	—	0,805	0,97	
14	—	1,72		
15	—	2,25		
1	Bœuf	1,26		
7	Rat	0,87	1,29	Jeûneur.
8	—	0,92	1,14	—
9	—	1,24	1,56	—
10	—	0,95	1,09	—
11	—	1,09	1,16	—

Comme on peut le voir en examinant ce tableau, le rapport trouvé *est très supérieur* à celui de l'acide nucléique de levure ; ici, ses variations sont dues aux déterminations de l'azote amino-purique qui s'écartent souvent notablement l'une de l'autre. Parfois les deux dosages d'azote amino-purique sont concordants, parfois ils diffèrent de 40 p. 100 sans que l'on puisse donner une explication satisfaisante de ces écarts que l'on n'observe pas sur les embryons de mammifères. Que l'on opère sur des tissus adultes frais, extraits par l'alcool, ou sur la solution sodique de protides obtenue au cours de l'emploi de la technique de PLIMMER et SCOTT, les résultats ne sont pas meilleurs. Les concordances les plus mauvaises sont obtenues soit sur les muscles, soit sur les animaux entiers qui contiennent 43 p. 100 du poids du corps sous forme de tissu musculaire (¹). Les résultats sont meilleurs quand on s'adresse

(¹) A la naissance (Rat, Souris, Homme) les muscles ne font que 23 p. 100 du poids du corps.

à des organes riches en acide nucléique, comme le montre le tableau suivant (tableau n° II). Ils sont loin d'être absolument satisfaisants (¹).

Pour les organes glandulaires, la valeur du rapport $\frac{\text{phosphore nucléique}}{\text{azote aminopurique}}$ oscille entre 0,94' et 1,19 ; on le voit atteindre cependant 1,6 dans l'intestin du Chien jeûneur.

TABEAU II

Rapport $\frac{\text{phosphore nucléique}}{\text{azote amino-purique}}$ dans les organes.

Nos	Espèces	Organes	Rapport :		Observations
			Phosphore	nucléique	
			Azote	amino-purique	
5	Chien.....	Foie	1,10		Normal.
8	—	—	1,04	1,28	Jeûneur.
11	Lapin	—	0,965	0,945	Normal.
15	—	—	1,07		—
1	—	—	1,12		Jeûneur.
1	Cobayes	—	1,13		Normaux.
50	—	—	1,02		Jeûneurs.
5	Chien.....	Intestin.	1,19		Normal.
7	—	—	1,59	1,60	Jeûneur.
10	Lapin	—	1,01	1,00	Normal.
15	—	—	1,39	0,985	—
2	—	—	0,94		Jeûneur.
4	—	—	1,12		—

Nous concluons de ces analyses : 1° qu'il est impossible d'appliquer la méthode de KRUGER-SCHITTENHEIM *sans modifications* aux tissus adultes, et de tirer, par suite, des arguments physiologiques des valeurs trouvées ; 2° que cette méthode rend impossible, dans le même cas, d'établir un rapport $\frac{\text{phosphore nucléique}}{\text{azote animo-purique}}$ de quelque intérêt, susceptible

(¹) Nous avons cru au début que les erreurs *en moins* obtenues surtout avec le tissu musculaire, erreurs bien moins importantes si l'on travaille sur les tissus riches en noyaux, devaient être exclusivement dues au fait que l'on dosait de faibles quantités d'azote purique sur des organes pauvres en ce composé. Mais des prises faites sur de grandes quantités de muscles et de faibles quantités d'organes nous ont montré que ceci n'était qu'en partie exact ; les erreurs que révèlent les dosages témoins faits sur l'intestin sont là pour le confirmer.

de nous renseigner par exemple, sur la composition de l'acide nucléique des tissus normaux ou pathologiques.

MÉTHODES DE DOSAGE DE L'ARGININE ET DE LA CYSTINE. — Nous n'envisageons dans ces notes, du point de vue expérimental et critique, que le dosage des acides diaminés.

La méthode classique de KOSSEL et KUTSCHER, ainsi que les améliorations qui lui furent ultérieurement apportées (KOSSEL et PATTEN, STEUDEL, WEISS, EDLBACHER, etc...), comportent une précipitation initiale de l'arginine et de l'histidine sous forme de composés argentiques. Les deux acides sont ultérieurement séparés par la différence de solubilité de leurs sels d'argent dans des milieux d'alcalinité convenablement choisie ; si elle se fait dans un milieu de $\text{pH} = 7,0$, la séparation est satisfaisante. L'emploi du sulfate d'argent, très peu soluble, oblige à employer de très grands volumes de liquide et la précipitation est loin d'être quantitative. Les corrections de solubilité sont illusoires ; le rapport de l'arginine à l'histidine variant avec la nature des protides utilisés, il est difficile de fixer le facteur à employer. L'emploi du nitrate d'argent comme précipitant oblige à laver les précipités jusqu'à disparition de l'azote nitrique : on y arrive très difficilement dans la pratique. VAN SLYKE, PLIMMER ont abandonné cette méthode, et justifient l'emploi de celles qu'ils ont proposées par l'obtention de résultats plus élevés lors de comparaisons avec celle de KOSSEL. Enfin KOSSEL lui-même a récemment préconisé une technique nouvelle pour le dosage de l'arginine, plus précise, et dont nous parlerons plus loin (13).

Dans la technique de VAN SLYKE modifiée par PLIMMER (12, 13) la séparation est faite dans les liquides d'hydrolyse par une précipitation phosphotungstique qui entraîne : arginine, histidine, lysine et cystine. Comme nous le disions plus haut, en comparant cette technique à celle de KOSSEL, on obtient des chiffres plus forts : voici à titre d'exemple un tableau tiré de la monographie bien connue de PLIMMER (17).

	Arginine	Lysine	Histidine	Méthode employée
Gliadine. {	2,70	0,13	1,49	} KOSSEL-PATTEN.
	2,97	1,21	2,19	} VAN SLYKE.
Lactalbumine .. {	3,07	8,10	1,53	} KOSSEL-PATTEN.
	3,47	9,89	2,61	} VAN SLYKE.

Les résultats plus faibles de la technique de KOSSEL s'expliquent en partie par la difficulté présentée par les lavages quantitatifs des volumineux précipités de sulfate de baryum qu'il faut faire, lors de l'élimination de l'acide sulfurique.

Mais la méthode de VAN SLYKE elle-même est loin d'être satisfaisante. Elle comporte, après l'hydrolyse chlorhydrique, deux temps principaux : une précipitation des diamminés par l'acide phosphotungstique ; un dosage séparé des quatre diamminés.

La précipitation des diamminés : cystine, arginine, histidine, lysine, est-elle quantitative? Certainement non. Comme le montraient encore récemment PLIMMER (18), PLIMMER et ROSEDALE (19), ni l'arginine, ni la cystine ne sont précipitables quantitativement par l'acide phosphotungstique ; le premier de ces auteurs a montré que quinze mois après l'adjonction du précipitant, il se formait encore du phosphotungstate d'arginine dans les filtrats. Ce qui rend inopérant l'emploi des facteurs de correction pour la solubilité des phosphotungstates, c'est qu'ils ont été déterminés *sur des solutions aqueuses pures*, alors que dans la pratique on opère constamment dans des liqueurs contenant de fortes concentrations de mono et diaminoacides, mélangés en proportions quelconques puisqu'elles varient chaque fois que l'on s'adresse à un protide nouveau. Pour la cystine, il y a plus à faire d'ailleurs que d'employer un facteur de correction, puisque, pour la majeure partie des protides, il reste toujours plus de cystine en solution (60 p. 100) qu'il n'en précipite. VAN SLYKE lui-même a reconnu ce fait (23).

D'autre part, le précipité de phosphotungstates entraîne beaucoup de monoaminés dont on ne peut le débarrasser qu'en faisant *au moins une* recristallisation. C'est un point sur lequel DAVIES (4) insistait encore tout récemment.

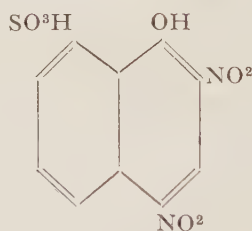
Mais les objections qu'on peut faire à la méthode de VAN SLYKE portent plus encore sur le dosage séparé des

diaminés. On dose directement l'arginine et la cystine. La lysine et l'histidine sont obtenues par calcul. Il s'ensuit que si la détermination de l'arginine n'est pas exacte, l'évaluation des deux derniers acides aminés est faussée du même coup.

VAN SLYKE admettait qu'en faisant subir à la solution de diaminés une ébullition de six heures avec la potasse à 50 p. 100, l'arginine seule cédait 50 p. 100 de son azote sous forme d'ammoniac, les autres diaminés présents restant inattaqués.

Bien qu'ayant réduit la concentration de la potasse à 20 p. 100, PLIMMER a montré que l'histidine et surtout la cystine cédaient, contrairement à ce qu'annonçait VAN SLYKE, une partie de leur azote. Le dosage de l'arginine n'est donc pas correct ; la détermination de l'histidine et de la lysine ne saurait l'être. Quant au dosage indirect de la cystine par le soufre, nous pensons qu'il y aurait beaucoup à dire sur l'emploi du procédé de BENEDICT et NASH.

KOSSEL et GROSS (13) ont récemment préconisé l'emploi de l'acide flavianique (acide dinitronaphtol-sulfonique ou jaune de naphtol) : pour le dosage de l'arginine. Mais le



réactif n'est pas spécifique ; le flavianate d'arginine possède simplement la propriété d'être beaucoup moins soluble que les sels des autres composés organiques présents dans les liquides d'hydrolyse, comme le montre le tableau suivant dressé par ces auteurs :

Solubilité dans 100 grammes d'eau à 17° de quelques composés de l'acide flavianique.

d.-arginine	0,177	urée	2,132
histidine.....	0,146	créatinine	0,198
lysine	1,862	guanine.	0,172
guanidine.....	0,250	d.-l.-arginine.....	0,162

NH³ : facilement soluble.

Avec leur nouvelle méthode, les auteurs ont fait des dosages comparatifs pour la confronter avec l'ancienne, sur deux hydrolysats :

Arginine p. 100.

	Méthode à l'argent	Méthode à l'acide flavianique
1 ^{er} échantillon.....	29,0	30,8
2 ^e échantillon.....	60,6	60,6

Ces dosages comparatifs ont été faits sur des composés manifestement riches en arginine, et probablement peu complexes. Personnellement nous n'avons pas obtenu de résultats aussi satisfaisants dans les milieux complexes (hydrolysats de tissus) et contenant beaucoup moins (7 p. 100) d'arginine. La technique indiquée par PRATT (22) améliorerait, d'après cet auteur, les résultats donnés par l'acide flavianique.

O. FURTH et DEUTSCHBERGER (7) ont de même apporté de nouvelles modifications au procédé de KOSSEL. Ces auteurs effectuent la précipitation à l'acide flavianique sur la solution des acides diamminés obtenue après précipitation phosphotungstique.

Plus récemment, M. M. IWANOFF (11) a préconisé une méthode originale du dosage de l'arginine dans les protides. Cet acide aminé est décomposé après hydrolyse par l'*Aspergillus niger* qu'on ensemence sur le milieu à étudier. L'urée formée est dosée par la méthode de FOSSE au xanthidrol. Les résultats obtenus ne sont pas quantitatifs, mais une étude détaillée pourrait peut-être réduire ou annuler les erreurs qui sont dans la méthode actuelle de 10 p. 100.

La méthode qui a le plus retenu notre attention est celle dont le principe a été posé par JANSEN (10), en 1916.

Elle consiste essentiellement à décomposer quantita-

tivement l'arginine, libérée par hydrolyse, au moyen de l'arginase, puis à doser ensuite l'urée formée. L'arginine étant le seul acide aminé susceptible de donner de l'urée, la réaction est spécifique et tout isolement préalable devient inutile.

L'auteur opère ainsi : il pèse 1 gramme de protide ou 10 grammes de tissus frais (muscle de grenouille, par exemple). Il hydrolyse ensuite au réfrigérant à reflux pendant cinq heures (une hydrolyse plus prolongée donnant, d'après lui, des pertes) avec 20 à 30 centimètres cubes d'acide chlorhydrique concentré ($D = 1.198$). Il transvase ensuite dans une capsule de porcelaine et chasse l'acide au bain-marie. Le résidu sec est repris avec de l'eau, neutralisé à la soude, puis très légèrement alcalinisé au tournesol. On transvase en s'aidant d'eau distillée dans une fiole jaugée de 50 centimètres cubes et l'on amène exactement à ce volume. On fait trois prises de 15 centimètres cubes que l'on place dans trois tubes à essais. Dans les tubes nos 2 et 3 on ajoute de l'arginase (obtenue à partir de foie de Chien ou de Chat) et de l'uréase (du Soja), puis du toluène. Le tube n° 1 n'est additionné que d'uréase, puis de toluène et d'alcool éthylique. Après avoir maintenu les trois tubes vingt-quatre heures à la température de la pièce, on ajoute une solution saturée de carbonate de potassium ; l'ammoniac libéré est entraîné au moyen d'un courant d'air, dans une solution d'acide sulfurique N/50. On titre en retour l'excès d'acide en présence du rouge de méthyle. Les chiffres fournis par les tubes 2 ou 3, diminués de ceux du tube témoin 1, donnent l'ammoniac correspondant à l'arginine. D'après JANSEN, pour un emploi de 20 à 30 centimètres cubes d'acide sulfurique N/50, on ne trouve jamais plus de un à deux dixièmes de centimètre cube de différence entre les tubes 2 et 3. Cette méthode est passible, selon nous, d'un certain nombre d'objections :

1° L'auteur dose l'arginine après l'avoir décomposée par deux actions diastasiques successives, mais il les fait jouer en même temps alors que les deux ferments n'ont pas le même pH optimum : celui de l'arginase est de 9,7 à 10 (EDLBACHER et BONEM) (15), et celui de l'uréase est de 7 (LOWGREN). Son milieu étant ajusté au tournesol est initialement de pH 9,2, ou plus.

2° La durée d'action de l'arginase fixée par JANSEN (24 heures à 15°) est certainement trop courte : EDLBACHER et BONEM, dans de sérieuses expériences, l'ont fixée à 72 heures quand on opère à 37°

3° Du point de vue théorique, le dosage indirect de l'arginine par l'ammoniac a le défaut de se faire par un composé banal pouvant avoir des origines multiples (ferments désaminants, etc...).

HUNTER et DAUPHINEE (9) emploient la même méthode que JANSEN, mais opèrent sur une solution d'acides diaminés obtenue à partir d'un hydrolysate, par précipitation phosphotungstique, puis libération de ces acides. Les indications données par ces auteurs sont fort brèves ; notons cependant qu'aux objections faites ci-dessus au procédé de JANSEN, on en peut surajouter d'autres :

1° Cette méthode nécessiterait une correction pour la solubilité du phosphotungstate d'arginine, et nous avons vu qu'elle est difficile à faire dans les milieux complexes ;

2° L'absence de monoaminés dans le milieu où agit l'arginase nécessiterait l'adjonction de tampons comme nous l'ont montré nos essais ; on ignore si les auteurs les ont employés (1).

C'est en présence de toutes ces imperfections de méthode que nous avons été conduits à élaborer une méthode personnelle que nous allons maintenant justifier et décrire. Comme nous allons le voir, c'est le principe de la méthode de JANSEN que nous avons adopté.

La modification essentielle que nous avons introduite, c'est le dosage de l'arginine par l'urée après sa décomposition par l'arginase dans un milieu débarrassé d'urée au départ, ce qui évite l'emploi d'un témoin. L'urée est dosée par pesée à l'état de dioxanthylurée (méthode de FOSSE). Mais nous avons dû fixer en outre toute une série de points de technique d'une importance capitale, de façon à faire de notre procédé une méthode exacte et d'un emploi général.

(1) Ils ont récemment proposé de doser l'urée par une méthode colorimétrique.

1^o PRÉPARATION DE L'ARGINASE.

Le foie d'un Chien normal, à jeun depuis vingt-quatre heures, tué par saignée à la carotide et lavé au Ringer, est broyé au hache-viande, mélangé avec deux fois son poids de sable de Fontainebleau, puis pressé à la presse hydraulique. Le jus obtenu est précipité en le versant en mince filet dans un excès (deux litres) d'acétone. Le précipité est rapidement recueilli sur un BUCHNER, lavé sur le filtre deux ou trois fois à l'acétone sèche, exprimé à fond, puis séché en couche mince dans l'étuve à 37° en remuant fréquemment. On broie dans un moulin à plateau en poudre fine et on sèche dans un dessiccateur à vide sur acide sulfurique pour enlever les dernières traces d'acétone. L'activité de la poudre est déterminée sur une solution de carbonate d'arginine préparée à partir de la scombrine des testicules mûrs de maquereau. Cette poudre *ne contient ni arginine libre, ni urée*. En faisant agir des quantités de poudre d'arginase de l'ordre du gramme sur des mélanges d'acides aminés exempts d'arginine, on constate la formation d'urée. La quantité d'urée formée semble proportionnelle à la quantité de poudre employée (expériences faites sur des quantités allant de 1 à 5 grammes de poudre). La présence d'ammoniaque n'a aucune influence sur ce phénomène. On évite toute cause d'erreur en n'opérant qu'avec des quantités de ferment ne dépassant pas 0 gr. 10. Cette quantité est toujours suffisante pour décomposer quantitativement 60 à 75 milligrammes d'arginine. Il nous semble avantageux d'effectuer les dosages sur des prises donnant ce poids d'arginine par hydrolyse.

2^o CONDITIONS OPTIMALES D'ACTION DE L'ARGINASE SUR L'ARGININE PURE.

EDLBACHER et BONEM (5), qui ont fait une étude détaillée des conditions optimales de décomposition de l'arginine, n'ont pas dépassé une transformation de 97 p. 100. Nous sommes arrivés facilement au dédoublement quantitatif.

Tout d'abord, nous avons observé une activité des solutions

d'arginase telles que les employaient EDLBACHER et BONEM, infiniment plus faible que celle des poudres de ferment employées en nature. Nous avons opéré, comme eux, 72 heures à 37° en présence de toluène, et après avoir ajusté initialement le pH à 9,9, nous avons toujours ajouté un tampon (1 gr. 5 de glyocolle par dosage) à la solution, de façon que la réaction ne change pas pendant toute la durée d'action de l'arginase ; c'est là une précaution d'importance primordiale. Enfin, comme on l'a vu, nous avons toujours dosé directement l'urée par le xanthidrol au lieu d'employer l'uréase.

On a, en respectant ces conditions, une décomposition quantitative de l'arginine, comme le montrent les expériences suivantes :

On prend une solution de carbonate d'arginine pur contenant 174 milligrammes de ce composé, qui correspondent à 141 milligrammes d'arginine, ou à 340 milligrammes de dixanthylurée. On tamponne par un mélange d'acides monoaminés après avoir amené à $\text{pH} = 9,9$; on fait agir *un excès* de poudre d'arginase 72 heures à 37° ; après précipitation de l'urée formée par le xanthidrol dans les conditions sus-indiquées, *on isole 340 milligrammes de dixanthylurée*, c'est-à-dire que la décomposition a été quantitative.

L'importance considérable de l'adjonction de tampons au milieu ressort des expériences suivantes :

50 centimètres cubes d'une solution d'arginine, qui doit fournir l'urée nécessaire à la formation de 280 milligrammes de dixanthylurée, donnent après 72 heures à 37° ($\text{pH} = 9,9$), *dans une solution sans tampons*, 247 milligrammes de dixanthylurée. A une prise identique on ajoute 20 centimètres cubes d'un mélange d'acides aminés provenant de l'hydrolyse d'un protide, et on fait agir l'arginase. On isole 308 milligrammes de dixanthylurée ; or un témoin fait sur une prise de 20 centimètres cubes de l'hydrolysats tampon employé donne 0 gr. 029 de dixanthylurée. On a donc :

0,308 — 0,209 = 0,279 de dixanthylurée (théorie 0 gr. 280).

Ces expériences ont été multipliées ; elles ont toujours donné des résultats du même ordre de précision.

Sans nous attarder à rechercher dans le détail les raisons de

l'amélioration de la méthode, signalons que nous les attribuons en grande partie au fait que nous avons toujours utilisé un ferment soigneusement titré, ainsi qu'en fait foi l'expérience ci-dessous, avec un de nos échantillons d'arginase :

Solution d'arginine pure à 3,52 p. 100 ; poudre d'arginase de foie de Chien — 72 heures d'action de l'arginase à 37° ; pH = 9,9.

Quantité d'arginine employée	Quantité de la solution d'arginine	Dixanthylurée trouvée	Pourcentage d'arginine décomposée
— dgr.	— cm ³	— gr.	—
0,25	20	0,539	76,5
0,50	20	0,644	91,5
0,70	20	0,665	94,5
1,00	20	0,688	98,0
2,00	20	0,704	100

En résumé, nous estimons qu'en respectant les conditions fixées par nous, et en n'employant que des poudres de ferment d'activité titrée avec soin, on peut obtenir un dédoublement quantitatif de l'arginine.

DOSAGE DE L'URÉE PAR LE XANTHYDROL.

Pour la précipitation de la dixanthylurée, elle doit toujours être faite dans un milieu contenant 70 p. 100 d'acide acétique. Dans les milieux n'en contenant que 50 p. 100, nous avons constaté la formation et la précipitation de xanthone insoluble, pouvant fausser les résultats ; même s'il s'en formait de petites quantités dans les milieux à 70 p. 100, elle resterait dissoute.

Le précipité de dixanthylurée se forme assez rapidement ; il n'est cependant complet qu'au bout de plusieurs heures.

Par exemple :

En quatre heures on précipite 96,5 p. 100 dans une prise devant fournir 300 milligrammes de dixanthylurée, et seulement 89 p. 100 dans une prise n'en devant fournir que 100 milligrammes. Au bout de 15 heures la précipitation est *dans tous les cas complète* ⁽¹⁾. Le précipité de dixanthylurée est lavé

(1) Si l'on opère la précipitation sur 100 cc. de la solution acétique en ajoutant 5 cc. de solution méthylique de xanthydrol (à 10 p. 100),

avec de l'alcool méthylique saturé de dixanthylurée ; la solubilité de ce composé dans l'alcool méthylique à 99,5 est à peu près de 0,006 grammes pour 100 à la température du laboratoire (cette solubilité est fonction du degré d'hydratation de l'alcool).

APPLICATION DE LA MÉTHODE AUX HYDROLYSATS DE PROTIDES.

A. — *Préparation de l'hydrolysat pour l'action de l'arginase.*

— L'hydrolyse est faite soit par ébullition de 48 heures à reflux avec de l'acide chlorhydrique à 25 p. 100, soit par chauffage à l'autoclave à 150°, pendant une heure et demie, avec de l'acide chlorhydrique trois fois normal (33 p. 100). L'acide chlorhydrique est chassé par évaporation à sec dans le vide. On reprend par l'eau. On évapore à nouveau à sec ; on reprend une seconde fois par l'eau chaude, on fait bouillir avec du noir animal ⁽¹⁾, puis on filtre et on lave abondamment à l'eau bouillante. L'azote humique est éliminé et le milieu est assez décoloré pour que l'ajustement colorimétrique du pH devienne possible. Nous avons préféré la décoloration au noir animal pur au procédé à la chaux de VAN SLYKE.

Primitivement, nous avons voulu, comme HUNTER et DAUPHINEE, n'appliquer notre méthode que sur la solution de diaminés obtenue selon la technique de VAN SLYKE. Nous avons abandonné ces tentatives, les corrections de solubilité des phosphotungstates étant au moins de 5 p. 100. Exemple :

Nous avons réuni les filtrats de six précipitations de diaminés par l'acide phosphotungstique — effectuées dans les conditions indiquées par VAN SLYKE — et provenant de prises de tissus égales.

Nous avons soumis l'ensemble des liquides, préalablement débarrassés d'acide chlorhydrique, à l'action de l'arginase

il reste 4 milligrammes de xanthylurée dans la solution mère. La solubilité du complexe dans le milieu est fonction de la concentration en xanthidrol et du volume de solution méthylique ajouté (action de dilution sur $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$).

(1) On peut se contenter du produit commercial à condition de le laver à fond avec de l'acide chlorhydrique bouillant.

et obtenu 130 milligrammes de dixanthylurée. Le dosage sur le précipité de phosphotungstates donnait, pour chaque dosage, une moyenne de 450 milligrammes, soit au total 2 gr. 7 de dixanthylurée. Ceci montre que dans ce cas 5 p. 100 environ de l'arginine restaient dans la solution des mono-aminés, ce qui correspond d'ailleurs à peu près à la solubilité indiquée par VAN SLYKE.

D'autre part, nous avons soumis l'arginine pure à tous les temps de notre procédé : hydrolyse chlorhydrique, évaporation à sec pour chasser l'acide chlorhydrique, ébullition avec le noir animal, etc..., et nous avons toujours retrouvé quantitativement cet aminoacide.

Exemple :

147 milligrammes d'arginine pure sont soumis à 48 heures d'ébullition à reflux avec 20 centimètres cubes d'acide chlorhydrique à 25 p. 100; on évapore à sec; on fait bouillir avec du noir animal ; on ajoute 1 gr. 5 de glycolle, puis, ayant ajusté le pH à 9,9, on soumet à l'action de l'arginase pendant 72 heures à 37° ; on obtient 357 milligrammes de dixanthylurée, soit 147,8 milligrammes d'arginine.

B. — *Dosage de l'urée.* — Si l'évaporation dans le vide de l'acide chlorhydrique de l'hydrolysate de protide n'est sujette à aucune critique, il n'en est pas de même pour ce qui est du liquide de pH 9,9, ayant subi l'action de l'arginase. *Même en milieu neutre, il y a destruction d'urée dès qu'on dépasse 70°,* comme nous avons pu le constater sur des solutions d'urée pure ; au-dessous de cette température, il n'y a pas d'attaque. Nous n'avons donc jamais dépassé 60° dans nos évaporations à ce stade. On se met à l'abri des causes d'erreurs provenant de la réaction du milieu, en neutralisant le liquide après action de l'arginase avec l'acide acétique, et en ayant soin de n'en mettre *qu'un très petit excès* pour assurer l'acidité. Les milieux contenant des tampons permettent d'ailleurs d'opérer en toute sécurité ces manipulations.

Si la présence des différents acides aminés contenus dans l'hydrolysate ne cause aucune gêne au cours des manipulations, mais au contraire les favorise (effet tampon), elle pourrait, *a priori*, troubler la précipitation de la dixanthylurée. Pour éliminer cette objection nous avons ajouté à des hydrolysats

de protides ne contenant pas d'urée 10 centimètres cubes d'une solution titrée d'urée, correspondant à 350 milligrammes de dixanthylurée pour ces 10 centimètres cubes. Le dosage a permis de retrouver exactement ce chiffre théorique (349 milligrammes), soit 99,7 p. 100 de la quantité ajoutée.

DESCRIPTION TEMPS PAR TEMPS DE LA TECHNIQUE.

Dosage de l'arginine dans les protides purs et les tissus. — Le dosage peut se faire sur 0 gr. 7 à 1 gr. 2 de protides purs, ou sur des tissus dont on prend une quantité telle qu'elle laisse environ ces poids de résidu sec.

Nous avons surtout fait des dosages sur les tissus d'homéothermes, 8 à 10 grammes sont extraits, après avoir été coupés en petits morceaux, dans un appareil de Kumagawa pendant 6 heures avec de l'alcool à 95°. On enlève ainsi les lipides, quelques sels, la créatine, l'urée, etc.

Le tissu extrait est séché, puis réduit en poudre fine dans un moulin à plateaux. Dans le cas de poudres riches en matières minérales (embryons d'un stade avancé) la poudre est ensuite bouillie quelques minutes avec de l'eau acidulée par l'acide acétique (0 cmc 5 p. 100 au maximum), ce qui la débarrasse d'extractifs ayant échappé à l'alcool ⁽¹⁾, de matières minérales et d'arginine libre s'il en existait. On lave à l'alcool-éther, et l'on sèche à 100°.

Le tissu est hydrolysé soit à reflux dans un ballon pendant 48 heures avec vingt fois son poids d'acide chlorhydrique à 25 p. 100, soit à l'autoclave à 150° dans un Erlenmeyer, pendant une heure et demie avec de l'acide chlorhydrique à 33 p. 100 (trois fois normal).

Le liquide d'hydrolyse est évaporé à sec dans le vide ; on remet 100 centimètres cubes d'eau ; on les évapore à nouveau, puis on reprend par l'eau chaude dans une capsule en porcelaine ; on ajoute 1 à 2 gramme de noir animal pur et très actif ; on fait bouillir pendant quelques minutes ; on filtre, on lave à fond le noir animal avec de l'eau bouillante sur le filtre. Le liquide est alors mis dans une capsule de porcelaine

(1) On trouvera dans le texte antérieur la critique de ce procédé.

et évaporé à sec au bain-marie, ce qui chasse les dernières traces d'acide chlorhydrique et évite, au moment de la neutralisation, un excès de chlorure de sodium dans le milieu, susceptible de gêner l'action de l'arginase.

On transvase quantitativement dans une fiole avec de l'eau chaude, et avec de la soude 2,5 normale on amène le pH à 9,9 exactement (colorimétriquement). Il est inutile, dans le cas des tissus et des protides, d'ajouter des tampons. On met un excès de poudre d'arginase d'activité titrée, du toluène, et on laisse 72 heures à 37° en agitant plusieurs fois. Au cours de l'action fermentaire il est bon de s'assurer que le pH ne varie pas ; si cela avait lieu, il suffirait de l'ajuster à nouveau avec de la soude.

Après action de l'arginase, on transvase quantitativement dans un ballon ; on acidifie par l'acide acétique très légèrement (tournesol). On distille dans le vide *sans jamais dépasser* 60°. Le résidu sec est repris par 30 centimètres cubes d'acide acétique à 70 p. 100 et transvasé dans un tube de centrifugeuse. On centrifuge, on lave à trois reprises et le ballon et le culot de centrifugation avec, chaque fois, 30 centimètres cubes d'acide acétique à 70 p. 100. L'ensemble des liquides acétiques est mis dans un bēcher et additionné d'un excès d'une solution de xanthidrol à 10 p. 100 dans l'alcool méthylique pur (on emploie environ deux fois la quantité nécessaire pour l'urée supposée présente) ⁽¹⁾. On laisse la condensation s'effectuer pendant au moins 10 heures. On recueille le précipité sur un papier filtre appliqué sur une plaque de porcelaine perforée ; on s'aide du vide. On lave le précipité avec 50 centimètres cubes au maximum d'alcool méthylique saturé de dixanthylurée. On sèche 4 heures à 105° le filtre et le précipité dans un pèse-filtre ; on détache le précipité du filtre, ce qui est facile, car il est sous forme de lames feuilletées. On sèche à nouveau le filtre 1 heure à 105°. La différence entre les deux pesées donne le poids de dixanthylurée qui, multiplié par le facteur 0,414, exprime la quantité d'arginine contenue dans la prise.

(¹) Si, ce qui est exceptionnel, les liquides acétiques étaient opalescents, il suffirait d'ajouter quelques gouttes du réactif de Fosse et de recentrifuger.

MÉTHODE DE DOSAGE DE LA CYSTINE.

Nous avons indiqué plus haut les objections soulevées par la détermination de la cystine suivant le procédé mis en œuvre dans la méthode de VAN SLYKE.

Ayant eu l'occasion de pratiquer de nombreuses déterminations de cet acide aminé dans les tissus, nous nous sommes arrêtés au procédé suivant qui nous a donné les meilleurs résultats.

Après avoir extrait pendant cinq à six heures, par l'alcool à 95°, dans un appareil de Kumagawa, le tissu dans lequel on veut déterminer la cystine, on le sèche à 100° puis on le broie en poudre *très fine* dans un moulin à plateau.

On prend 1 gr. 5 de la poudre obtenue et on la débarrasse de substances minérales et de sulfates minéraux, de glutathion, en la faisant bouillir deux fois dans un bécher avec 50 centimètres cubes d'acide acétique à 1 p. 100, on décante, puis on fait bouillir deux fois avec de l'eau distillée que l'on décante également sur filtre sans cendres. Enfin on jette sur le filtre et on lave à l'eau bouillante. Le filtre et son contenu lavés une dernière fois par l'alcool à 95° sont rapidement séchés à 50°. La poudre est alors recueillie quantitativement dans un bécher taré où on le sèche à 105° à poids constant (quelques heures). On prélève 0 gr. 7 pour déterminer l'azote total auquel on rapportera la cystine trouvée. La cystine est dosée sur une prise de 0 gr. 4.

Cette dernière prise est introduite dans l'appareil décrit par VILA et ANCELLE (25) à l'aide d'acide nitrique fumant (exempt d'acide sulfurique) ⁽¹⁾. On fait alors la minéralisation, suivant la technique indiquée par les auteurs, en renvoyant une vingtaine de fois l'acide nitrique condensé, dans le ballon où se fait la minéralisation.

Cette opération demande environ deux jours, elle doit être conduite lentement.

L'acide nitrique est alors recueilli quantitativement, le

(1) Les flacons laveurs de l'appareil doivent comporter le minimum de joints de caoutchouc (caoutchouc pur sans charge de cinabre ou de sulfate de baryte).

ballon étant rincé plusieurs fois avec l'eau des flacons laveurs. On rince une dernière fois le ballon avec quelques centimètres cubes d'acide chlorhydrique à 5 p. 100 afin de dissoudre les matériaux insolubles s'il en existait.

Tous les liquides obtenus sont rassemblés dans une petite capsule de porcelaine ; on amène à sec au bain-marie ; on reprend par l'eau légèrement chlorhydrique ; on amène à nouveau à sec. On reprend enfin par 10 centimètres cubes d'eau additionnée de quelques gouttes d'HCl normal. On laisse quelques minutes au bain-marie ; le volume étant réduit de moitié environ, on laisse refroidir avant d'effectuer la précipitation par la benzidine (technique de Mme B. POHORECKA-LELESZ) (21).

On précipite par 1 à 3 centimètres cubes d'une solution de chlorhydrate de benzidine (contenant 4 grammes de benzidine dissous dans 50 centimètres cubes d'acide chlorhydrique N amenés à 250 centimètres cubes). Cette quantité convient lorsque la prise de tissu contient 1 à 6 milligrammes de soufre. Au bout de deux minutes, on ajoute 5 centimètres cubes d'acétone pur.

Dix minutes après la précipitation est complète. On filtre sur un petit filtre à plaque de verre poreuse, en s'aidant du vide, suivant la technique de l'auteur.

Le lavage de la capsule et du précipité est effectué de la façon suivante : on rince la capsule avec 2 à 3 centimètres cubes d'acétone à 60 p. 100, on recommence une fois, puis une dernière fois on rince avec 2 à 3 centimètres cubes d'acétone pur. Le petit filtre à plaque poreuse est introduit dans un grand tube à essai en verre Pyrex. La capsule est reprise par 15 centimètres cubes d'eau bidistillée, sur le bain-marie, pour dissoudre les traces de précipité qui auraient pu rester. On verse cette eau après quelques minutes, dans le tube en Pyrex. On effectue le dosage du sulfate de benzidine selon les indications de Mme B. POHORECKA-LELESZ (21), à l'aide de soude N/50 en présence de quelques gouttes d'une solution aqueuse de rouge de phénol à 0,05 p. 100, jusqu'à disparition complète des paillettes de précipité et obtention de la coloration rouge, stable à l'ébullition.

Nous avons effectué, avec cette technique à la benzidine,

plusieurs déterminations sur des solutions d'acide sulfurique titrées, et nous avons toujours obtenu des résultats quantitatifs.

Le procédé ci-dessus décrit permet un dosage très précis de quelques milligrammes (1 à 6) de soufre organique. Il est très utilisable pour les protides purs sans cendres. Appliqué à plusieurs prises d'une poudre homogène de tissu préparée comme il a été dit ci-dessus, il donne des résultats qui ne diffèrent jamais de plus de 1 p. 100. Si l'on admet qu'un tissu extrait par l'alcool, puis par l'eau bouillante acidulée, ne contient ni sulfates, ni glutathion, on admettra qu'il permet, avec précision, un dosage indirect de la cystine par le soufre. On échappe ainsi aux inconvénients créés par la précipitation incomplète de la cystine par l'acide phosphotungstique, lorsqu'on la pratique sur les liquides d'hydrolyse (VAN SLYKE).

BIBLIOGRAPHIE DES TECHNIQUES

1. ABDERHÄLDEN (E.). *Lehrbuch der physiol. Chemie*, 1924.
- 1 bis. ADLER (Nik.). Kritisches und Experimentelles über die Bestimmung des Nucleinsäuregehaltes von Organem. *Biochem. Zeitschr.*, 1927, t. CLXXIX, p. 400.
2. BLANCHETIÈRE (A.). L'évolution de nos connaissances sur la structure chimique de la molécule des protides. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, t. VII, p. 218.
3. BONOT (A.) et CAHN (Th.). Dosage de l'arginine dans les protides purs et les tissus par la méthode de JANSEN modifiée. *C. R. Ac. des Sciences*, 1927, t. CLXXXIV, p. 246.
4. DAVIES. The titration of protein hydrolysates. *Biochem. Jour.*, 1927, t. XXI, p. 815.
5. EDLBACHER (S.) und BOÑEM (P.). Beiträge zur Kenntniss der Arginase. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 1925, t. CVL, p. 69.
6. FOSSE (R.). L'urée. Les Presses Universitaires de France, Paris, 1928.
7. FURTH (O.) und DEUTSCHBERGER (O.). Über den Arginingehalt einiger Proteide sowie normaler und amyloidhaltiger Organe. *Biochem. Zeitschr.*, 1927, t. CLXXXVI, p. 139.
8. HOPPE-SEYLER-THIERFELDER. Handbuch der physiol. u. pathol. chem. Analyse, 9^e éd. Verl. J. Springer, 1924.
9. HUNTER (A.) et DAUPHINÉE (J.). The determination of arginin by the use of arginase. *Journ. of biol. Chem.*, 1925, t. LXIII, p. 39.

10. JANSEN (B. C. P.). Ein Verfahren zur genauen quantitativen Arginin Bestimmung in Eiweissarten. *Chem. Weekbl.* 14, 124 ; cité d'après Maly's Jahresbericht, 1917, t. XLIII, p. 202.
 11. IWANOFF (N. N.). Über den Ursprung des von Schimmelpilzen ausgeschiedenen Harnstoffs. *Biochem. Zeitschr.*, 1925, t. CLXII, p. 425.
 12. IWANOFF (N. N.). Der Harnstoff der Pilze und dessen Bedeutung. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 1927, t. CLXX, p. 274.
 - 12 bis. JAVILLIER (K.) et ALLAIRE (H.). Sur le dosage du phosphore nucléique dans les tissus des animaux. *Bull. Sté. Chim. Biol.*, 1925, t. VIII, p. 486.
 13. KOSSEL (A.) und GROSS (B. E.). Ueber die Darstellung und quantitative Bestimmung des Arginins. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 1924, t. CXXXV, p. 167.
 14. LAUDAT (M.). Le dosage de l'urée dans le sang. État actuel de la question. *Journ. de Pharm. et Chim.*, 1921, t. XXIII, p. 5.
 - 14 bis. LE BRETON (E.) et SCHAEFFER (G.). Variations biochimiques du rapport nucléo-plasmatique au cours du développement embryonnaire. Masson et C^{ie}, Paris, 1923.
 15. LOONEY (J. M.). The colorimetric estimation of tyrosine, tryptophane, and cystine in proteins. II. *Jl. Biol. Chem.*, 1926, t. LXIX, p. 519.
 16. PLIMMER (A.) and BAYLISS (W. M.). The separation of phosphorus from caseinogen by the action of enzymes and alkali. *Jl. of phys.*, 1901, t. XXXIII, p. 439.
 17. PLIMMER (R. H.). The chemical constitution of the proteins. Part. I. *Analyse* 3^e éd. Longmans, Green et C^o, London, 1917.
 18. PLIMMER (R. H. A.). Analysis of protein by D. Van Slyke's method of determination of nitrogen distribution. *Biochem. Jour.*, 1925, t. XIX, p. 1004.
 19. PLIMMER (R. H. A.) and ROSEDALE (F. L.). Analysis of protein VII Direct. estimation of arginin. *Biochem. Jour.*, 1925, t. XIX, p. 1920.
 20. PLIMMER (A.) and LOWNDES (J.). Analysis of protein VIII. Estimation of cystine in the modified Van Slyke method. *Bioch. Journ.*, 1927, t. XXI, p. 247.
 21. POHORECKA-LELESZ (M^{me} B.). Dosage microvolumétrique du soufre dans les liquides biologiques. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1927, t. IX, p. 263.
 22. PRATT (A. E.). The preparation of d-arginine-carbonate. *Jour. Biol. Chem.*, 1926, t. LXVII, p. 311.
 23. VAN SLYKE (D. D.). *Journ. Biol. Chem.*, 1911, t. X, p. 15.
 4. VICKERY (H. B.) and LEAVENWORTH (Ch. S.). On the separation of the silver compounds of histidine and arginine. II. The separation at a pH = 7,0. *Journ. Biol. Chem.*, 1927, t. LXXII, p. 403.
 5. VILA (A.) et ANCELLE (R.). Appareil et procédé pour minéraliser les matières organiques. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1927, t. IX, p. 340.
-

BIBLIOGRAPHIE DU JEUNE

1. ABDERHALDEN (E.). Gedanken über den spezifischen Bau der Zellen der einzelnen Organe und ein neues biologisches Gesetz. *Münch. Med. Woch.*, 1913, t. LX, p. 2385.
2. ABDERHALDEN (E.). Vergleichende Studien an Proteinen, Polypeptiden und 2,5 Dioxypiperazinen als Beiträge zur Aufklärung der Struktur von Eiweisstoffgruppen. X. Tg. *Dtsch. Phys. Ges. in Berichte. ü. d. Ges. Phys. B.*, 1927, t. VIII, p. 597.
3. BENEDICT (F. G.). The relationship between body surface and heat production especially during prolonged fasting. *The Amer. Jl. of Physiology.*, 1916, t. IXL, p. 292.
4. BENEDICT (St. R.). and OSTERBERG (E.). Studies in creatine and creatinine metabolism. *Jl. of Biol. Chem.*, 1923, t. LXI, p. 229.
5. BENEDICT (F. G.), NEWTON (E. B.) and BEHRE (J. A.). A new sulfur containing compound (thiasine) in the blood. *Jl. Biol. Chem.*, 1925, t. LXII, p. 267.
6. BELTINGK (de R. R.). Contribution à l'étude des modifications de la constitution chimique de l'organisme pendant l'inanition. *Arch. des Sciences Biol.* (Saint-Petersbourg), 1896, t. V, p. 387.
7. BIERRY (H.). Le sucre protéidique. *C. R. Ac. des Sc.*, 1919, t. CLXVIII, p. 1225.
8. BIERRY (H.) et VIVARIO (R.). Dosage des albumines globales du plasma sanguin. *C. R. Soc. de Biol.*, 1923, t. LXXXIX, 1923, pp. 13-16-18.
- 8 a). BONOT (A.) et CAHN (Th.). Dosage de l'arginine dans les protides purs et les tissus par la méthode de Jansen modifiée. *C. R. Ac. des Sc.*, 1927, t. CXXVIC, p. 246.
9. BURNS (David). On the precursor of creatine in chick muscle. *Bioch. Jl.*, 1916, t. X, p. 263.
10. CAHN (Th.). Revue critique de nos connaissances sur la composition chimique et la structure histologique du muscle normal et atrophie. *Annales de Phys. et de Physiques Biol.*, 1926, t. V, p. 646.
11. CAHN (Th.). Dégénérescence musculaire. Assimilation fonctionnelle et action nerveuse. Contribution à l'étude des équilibres cellulaires. *Ann. de Phys. et de Physicochimie Biol.*, 1927, t. I, p. 4.
12. CAHN (Th.) et BONOT (A.). Démonstration de l'existence de protides de réserve dans le foie de Mammifères. *C. R. Ac. des Sciences.*, 1927, t. CXVC, p. 1212.

13. CASPARI (W.) and STILLING (E.). Der Eiweisstoffwechsel. *Hdbch. der Bioch.* 2 t. Aufl. 1925, t. VIII, p. 677.
14. CATHCART (E. P.). The influence of carbohydrates and fats on protein metabolism. *Jl. of Phys.*, 1910, t. XXXIX.
15. CATHCART (G. D.). Nitrogen distribution in the tissues and some of the factors which influence it. *The Bioch. Jl.*, 1916, t. X, p. 197.
16. CHOSSAT (Charles). Recherches expérimentales sur l'inanition. Paris, 1843.
17. CLEMENTI (H.). Une nouvelle hypothèse de travail sur la signification physiologique des protamines et des histones par rapport au métabolisme nucléaire. *Arch. intern. de Phys.*, 1921, t. XVI.
18. COHN (Ed. J.). The physical chemistry of the proteins. *Phys. Reviews.*, 1925, t. V, p. 349.
19. DAWYDOFF (C.). Sur le retour d'une Némerte Lineus bactens en inanition à un état embryonnaire. *C. R. Ac. de Sc.*, t. CLXXIX, p. 21.
20. DIESSELHORST (G.). Über die Zusammensetzung des Fleisches bei verschiedener Ernährung. *Arch. f. d. Ges. Phys.*, 1911, t. CXL, p. 256.
21. DRUMMOND (J. C.). A Study of the distribution of nitrogen in the proteins of tumours and normal tissues. *The Bioch. Jl.*, 1916, t. X, p. 473.
- 21 a. FELIX (K.). Zur Structur der Eiweisskörper nach Versuchen am Thymushiston, dem Hämoglobin und der Gelatine. *X. Tg. Dtsch. Phys. Ges. in Ber. ü. d. ges. Phys. B.* 1927 t. XLII, p. 597.
22. FOLIN (O.). Approximately complete analysis of thirty « normal » urines. *Amer. Jl. of Phys.*, 1905, t. XIII, p. 45.
23. FOLIN (O.). Laws governing the chemical composition of urine. *Amer. Jl. of Phys.*, 1905, t. XIII, p. 66.
24. FOLIN (O.) and LOONEY (J. M.). Colorimetric methods for the separate determination of tyrosine, tryptophane, and cystine in proteins. *Jl. Biol. Chem.*, 1922, t. LI, p. 421.
25. FURTH (O.). Remarques sur le mémoire de J. Tillmans et A. Alt « Sur la teneur des protides les plus importants des aliments en tryptophane et sur un nouveau procédé de dosage du tryptophane ». *Biochem. Zeitschr.*, 1926, t. CLXIX, p. 117.
26. GREENE (Ch. W.). Biochemical changes in the muscle tissue of King Salmon during the fast of spawning migration. *Jl. of Biol. Chem.*, 1919, t. XXXIX, p. 435.
27. GREENE (C. H.). Changes in nitrogenous extractives in the muscular tissue of the King Salmon during the fast of spawning migration. *Jl. Biol. Chem.*, 1919, t. XXXIX, p. 457.
28. GRUND (G.). Über den Gehalt des Organismus an gebundenen Pentosen. *Zeitschr. f. Phys. Chem.*, 1902, t. XXXV, p. 111.

29. GRUND (G.). Organanalytische Untersuchungen über den Stickstoff und Phosphorstoffwechsel und ihre gegenseitigen Beziehungen. *Zeitschr. f. Biologie.*, 1910, t. LIV (36), p. 173.
30. HITCHCOCK (J. A.) and RAWLINS (A. L.). The effect of the amount of protein in the previous diet on the nitrogen excretion of the albino rat during a fast. *Amer. Jl. of Phys.*, 1926, t. LXXX, p. 450.
31. HOFFMANN (W. F.) und GORTNER (R. A.). *Jl. Am. Chem. Soc.*, 1922, t. XXXXIV, p. 341. Cit. Jones Gersdorff, Moeller.
32. HOPKINS (F. G.). On the isolation of glutathione. *Jl. Biol. Chem.*, 1927, t. LXXII, p. 185.
33. HUNTER (G.) and EAGLES (B. A.). Non-protein sulfur compounds of blood. I. Sympectothion. *Jl. Biol. Chem.*, 1927, t. LXXII, p. 123.
34. HUNTER (G.) and EAGLES (B. A.). II. Glutathione. *Jl. Biol. Chem.*, 1927, t. LXXII, p. 133.
35. HUNTER (G.) and EAGLES (B. A.). Glutathione. A critical Study. *Jl. Biol. Chem.*, 1927, t. LXXII, p. 133.
36. HUNTER (G.) and EAGLES (B. A.). On the presence of cystine in liver. *Jl. Biol. Chem.*, 1927, t. LXXII, p. 167.
37. JANNEY (N. W.). Protein content of muscle. *Jl. Biol. Chem.*, 1916, t. XXV, p. 187.
38. JAVILLIER (M.) et ALLAIRE (H.). Quelques rapports entre l'indice du phosphore nucléique et d'autres indices phosphorés des tissus. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1927, t. IX, p. 772.
39. JUNKERSDORF (P.). Beiträge zur Physiologie der Leber. I^{te} Mitteilung : Das Verhalten der Leber im Hungerzustand. *Pflüger's Archiv.* 1921, t. CXXIV, p. 238.
40. JUNKERSDORF (P.). Untersuchungen über die Gewichtsverhältnisse und die chemische Zusammensetzung der Organe des ausgewachsenen Hundes. *Pflüger's Archiv.*, 1925, t. CCX, p. 351.
41. JUNKERSDORF (P.). Beiträge zur Physiologie der Leber. II^{te} Mitteilung : Das Verhalten der Leber bei einseitiger Ernährung mit Eiweiss. *Pflüger's Archiv.*, 1925, t. CXXIV, p. 254.
42. JUNKERSDORF (P.). III^{te} Mitteilung: Das Verhalten der Leber bei Glykogenmast. *Pflüger's Archiv.*, 1921, t. CXXIII, p. 269.
43. LIEBEN (F.) und LASZLO (D.). Ueber die Beziehungen des Kreatins zum Eiweiss und Kohlehydratstoffwechsel. *Biochem. Zeitschr.* 1926, t. CLXXVI, p. 403.
44. LE BRETON (E.) et SCHAEFFER (G.). Variations biochimiques du rapport nucléo-plasmatique. Masson et C^{ie}, Paris, 1923.
45. LE BRETON (E.). Sur la présence et le dosage dans le phosphore lipoïdique total éthérosoluble de composés phosphorés autres que les phosphatides. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1921, t. III, p. 539.
46. LUSTIG (B.). Versuche über den Eiweissabbau mit Trypsin

- unter gleichzeitiger Dialyse. *Biochem. Zeitschr.*, 1926, t. CLXIX p. 139.
47. MAYER (A.) et SCHAEFFER (G.). Recherches sur la teneur des tissus en lipoïdes. Teneur des tissus en phosphore lié aux lipoïdes. *Jl. de Phys. et Path. Gén.*, 1913, t. XV, p. 773.
48. MAYER (A.) et SCHAEFFER (G.). Recherches sur les constantes cellulaires. Teneur des cellules en eau. *Jl. de Phys. et Path. Gén.*, 1913, t. XVI, p. 23.
49. MAYER (A.) et SCHAEFFER (G.). Recherches sur les variations des équilibres cellulaires. Variations de la teneur des tissus en lipoïdes et en eau au cours de l'inanition absolue. *Jl. de Phys. et Path. Gén.*, 1914, t. XVI, p. 203.
50. MENDEL (Lafayette B.). Der Einfluss der Nahrung auf die chem. Zusammensetzung des Tierkörpers. *Biochem. Zeitschr.*, 1908, t. XI, p. 281.
51. MITCHELL (H. H.). Feeding experiments on the substitution of protein by definite mixtures of isolated amino-acide. *Jl. Biol. Chem.*, 1916, t. XXI, p. 231.
52. MITCHELL (H. H.). The influence of protein feeding on the concentration of amino acids and their nitrogenous metabolites in the tissues. *Jl. Biol. Chem.*, 1918, t. XXXVI, p. 501.
53. MITCHELL (H. H.), NEVENS (W. B.) and KENDALL (J. E.). The relation between the endogenous catabolism and the non protein constituents of the tissues. *Jl. Biol. Chem.*, 1922, t. LII, p. 417.
54. MITCHELL (H. H.). The biological value of proteins at different levels of intake. *Jl. Biol. Chem.*, 1924, t. LVIII, p. 905.
55. MITCHELL (H. H.). The supplementary relations among proteins. *Jl. Biol. Chem.*, 1924, t. LVIII, p. 923.
56. MORGULIS (S.). Hunger und Unterernährung. *Verl. Jul. Springer*, Berlin. 1923.
57. MORPURGO (B.). Sur la nature des atrophies par inanition. *Arch. ital. de Biol.*, 1889, t. XII, p. 333.
58. MOULTON (R.). Biochemical changes in the flesh of beef animals during underfeeding. *Jl. Biol. Chem.*, 1920, t. XLVII, p. 67.
59. MOULTON (R.). Age and chemical development in mammals. *Jl. Biol. Chem.*, 1923, t. LVII, p. 79.
60. MÜLLER (M.). Studien über die Zusammensetzung des Fleisches bei verschiedener Ernährung. *Arch. f. d. Ges. Phys.*, 1907, t. CXVI, p. 207.
61. MYERS (V. C.) and VOLOVIC (G. O.). The influence of fever on the elimination of creatinine. *Jl. of Biol. Chem.*, 1913, t. XIV, p. 489.
62. MYERS (V. C.) and FINE (Morris S.). The influence of starvation upon the creatine content of muscle. *Jl. of Biol. Chem.*, 1913, t. XV, p. 283.

63. NEWTON (E. B.), BENEDICT (St. R.) and DAKIN (H. D.). On thiasine, its structure and identification with ergothioneine. *Jl. Biol. Chem.*, 1927, t. LXXII, p. 367.
64. NOBUYOSHI (U.). The influence of the nature of the diet on the retention of protein. *The Bioch. Jl.*, 1916, t. X, p. 245.
65. OSBORNE and JONES. Hydrolysis of the muscle of scallop (*pecteus irradians*). *Amer. Jl. Phys.*, 1909, t. XXIV, p. 161.
66. OSBORNE (Th. B.) and MENDEL (L. B.). Amino-acide in nutrition and growth. *Jl. Biol. Chem.*, 1914, t. XVII, p. 325.
67. OSBORNE (Th. B.) and MENDEL (L. B.). A quantitative comparison of casein, lactalbumins and edestin for growth and maintenance. *Jl. Biol. Chem.*, 1916, t. XXVI, p. 1.
68. PUGLIESE (A.). I. Études sur la réalimentation. II. Les matières organiques et inorganiques du foie et des muscles dans les premiers jours de la réalimentation. *Jl. de Phys. et Path. Génér.*, 1904, t. VI, p. 193.
69. ROSE (W. C.), DIMMIT (F. V.) and CHEATHAM (P. N.). Experimental studies on creatine and creatinine. VI. Protein feeding and creatine elimination in fasting man. *Jl. of Biol. Chem.*, 1916, t. XXXVI, p. 339.
70. ROSE (W. C.), and COX (G. I.). The relation of arginine and histidine to growth. *Jl. Biol. Chem.*, 1924, t. LXI, p. 747.
71. ROSE (W. C.), and COOK (R. G.). The relation of histidine arginine to creatine and purine metabolism. *Jl. Biol. Chem.*, 1925, t. LXIII, XVII.
72. RUBNER (M.). Verluste und Wiedererneuerung im Lebensprozess. *Arch. f. Physiol.*, 1911, p. 39.
73. RUBNER (M.). Die Beziehungen zwischen dem Eiweissbestand des Körpers und der Eiweissmenge der Nahrung. *Arch. f. Physiol.*, 1911, p. 60.
74. RUBNER (M.). Über den Eiweissansatz. *Arch. f. Phys.*, 1911, p. 67.
75. RUBOW (V.). Über den Lecithingehalt des Herzens und der Nieren unter normalen Verhältnissen, im Hungerzustande und bei der fettigen Degeneration. *Arch. f. exp. Path. und. Pharm.* 1905, t. LII, p. 173.
76. SCHAEFFER (Georges). Les travaux récents sur les besoins qualitatifs d'azote chez les mammifères et les vitamines. *Bull. Sté. Scient. d'Hygiène Alimentaire*, 1918, t. VI, p. 1.
77. SCHREUER (M.). Ueber die Bedeutung überreichlicher Eiweissnahrung für den Stoffwechsel. *Pflüger's Archiv.*, 1905, t. CX, p. 227.
78. SEDLMAIR (A. C.). Über die Abnahme der Organe, insbesondere der Knochen, beim Hunger. *Zeitschr. f. Biol.*, 1899, t. XIX (37), p. 25.
79. SEITZ (W.). Die Leber als Vorrathskammer für Eiweisstoffe. *Arch. f. d. Ges. Phys.*, 1906, t. CXI, p. 309.
80. SHERMAN (H. C.). Protein requirement of maintenance in man

- and the nutritive efficiency of bread protein. *Jl. Biol. Chem.*, 1920, t. XLI, p. 97.
81. SLOWTZOFF (B.). Beiträge zur vergleichenden Physiologie des Hungerstoffwechsels. I^{te} Mitteilung : Der Hungerstoffwechsel der Insekten. *Hofmeister's Beiträge*, 1904 t. IV, p. 23.
 82. SLOWTZOFF (B.). II^{te} Mitteilung : Der Hungerstoffwechsel der Weinbergschnecke. *Hofmeister's Beiträge*, 1904, t. IV, p. 460.
 83. STEENBOCK (H.). and GROSS (E. G.). Creatinuria I Exogenous origin of urinary creatine. *Jl. of Biol. Chem.*, 1918, t. XXXVI, p. 265.
 84. STEWART (C. P.). Studies on the metabolism of arginine and histidine. Part. I. Arginine and histidine as precursors of purines. *The Bioch. Jl.*, 1925, t. XIX, p. 1101.
 85. STUBEL (H.). Die Wirkung des Adrenalins auf das in der Leber gespeicherte Eiweiss. *Pflüger's Archiv.*, 1920, t. CLXXXV, p. 74.
 86. SZORENYI (E.). Deutung und Folgen der Veränderung in der Körper-zusammensetzung kleiner, an Hunger oder Unterernährung verendeter Thiere. *Biochem. Zeitschr.*, 1927, t. CLXXXIII, p. 350.
 87. TERROINE (E. J.), TRAUTMANN (S.) et SCHNEIDER (J.). Grandeur des échanges au cours de l'inanition chez les homéothermes et notion de masse active. *Annales de Physiol. et de Physicochimie biol.*, 1926, t. II, p. 468.
 88. TERROINE (E. F.) et BELIN (P.). L'élément constant des lipides : ses caractères. *Bull. Sté. Chim. Biol.*, 1927, t. IX, p. 12.
 89. TERROINE (E. F.) et RITTER (Ch.). Le métabolisme de base est-il fonction de la grandeur de la masse active représentée par les substances nucléiniques ? *Annales de Physiol. et de physico-chimie biol.*, 1927, t. III, p. 574.
 90. TILLMANS (J.) und ALT (A.). Ueber den Gehalt der wichtigsten Proteinarten der Lebensmittel an Tryptophan und ein neues Verfahren der Tryptophanbestimmung. *Biochem. Zeitschr.*, 1925, t. CLXIV, p. 135.
 91. TROENSEGAARD (U.) et FISCHER (E.). Untersuchungen ü. d. Zusammensetzung der Proteine. VI. Konstitutionsuntersuchungen am Gliadin. *Zeitschr. f. phys. Ch.*, 1924, t. CXLVIII, p. 35.
 92. TRUCZKOWSKI (R.). Studies in Purine metabolism. I. Variations in the nuclear plasmic ration in the adult albino-rat. *The Bioch. Jl.*, 1926, t. XX, p. 437.
 93. TRUCZKOWSKI (R.). II. Synthesis of purines by the adult mammalian organism. *The Bioch. Jl.*, 1926, t. XX, p. 437.
 94. VOIT (E.). Ueber die Ursache der Zunahme der Eiweisssetzung während des Hungerns. *Zeitschr. f. Biol.*, 1901, t. XLI, p. 550.

95. VOIT (E.). Ueber die Grösse des Energie-bedarfes der Tiere im Hungerzustand. *Zeitschr. f. Biol.*, 1901, t. XLI, p. 113.
 96. VOIT (E.). Welchen Schwankungen unterliegt das Verhältnis der Organgewichte zum Gesamtgewichte des Tieres? *Zeitschr. f. Biol.*, 1905, t. IVL, p. 153.
 97. WEBER (S.). Ueber Hunger Stoffwechsel. *Ergeb der Physiol.*, 1900, t. I, p. 725.
 98. WEISER (S.). Einfluss länger dauernden Stickstoffgleichgewichts auf den wachsenden tierischen Organismus. *Biochem. Zeitschr.*, 1926, t. CLXXIII, p. 14.
 99. WELLMANN (O.). Untersuchungen über den Umsatz von Ca, Mg und P bei hungernden Tieren. *Pflüger's Archiv.*, 1908, t. CXXI, p. 508.
 100. WETZEL (N. C.). The kinetics of starvation. *The Jl. of gen. Phys.*, 1924, t. VII/2, p. 269.
 101. WETZEL (N. C.). The kinetics of starvation. II. The loss of pigeons subsisting on water alone. *Jl. of gen. Phys.*, 1925, t. VII/6, p. 709.
 102. WITSCH (K.). Untersuchungen über die Organveränderungen und das Stoffwechselgeschehen im Hungerzustand. *Pflüger's Arch.*, 1926, t. CCXI, p. 185.
-

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté.

1^o LES RÉFLEXES CONDITIONNELS.

2^o LES FORMATIONS TERTIAIRES EN ALSACE.

Vu : *Le Doyen,*
Paris, le 6 juin 1928.
CH. MAURAIN.

Vu : *Le Président,*
L. LAPICQUE.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLETY.

